

ASSIGNMENT OF INVENTORSHIP

WHEREAS:

1. **CHOI, Jong Min** citizen located in 103-404, 26, Gwonseon-ro 694beon-gil, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16567 Republic of Korea
2. **KIM, Su-Jeong** citizen located in 46, Edu town-ro 106beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16509 Republic of Korea
3. **BAK, Youn-Kyung** citizen located in 848-805, 26, Yeongtong-ro 290beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16698 Republic of Korea
4. **PARK, Jung Gyu** citizen located in 405-501, 60, Togeumjung-ro, Nam-gu, Incheon 22187 Republic of Korea
5. **BYUN, Sung Bae** citizen located in 104-1308, 70, Yongpo 2-gil, Geumnam-myeon, Sejong 30083 Republic of Korea
6. **SHIM, Dong Seok** citizen located in 108-1002, 2742, Yonggu-daero, Suji-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 16868 Republic of Korea
7. **LEE, In** citizen located in 5413-104, 65, Docheong-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16509 Republic of Korea
8. **PARK, Seung Won** citizen located in 801-2002, 411, Guseong-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 16894 Republic of Korea
9. **JUNG, Dong Chul** citizen located in 101, 23-7, Gangnam-daero 12-gil, Seocho-gu, Seoul 06779 Republic of Korea

hereinafter referred to as ASSIGNOR, has invented and owns a certain invention entitled: **BACTERIAL, FUNGAL, AND YEAST GROWTH INHIBITOR CONTAINING ALLULOSE**

WHEREAS:

CJ CHEILJEDANG CORPORATION, located at **CJ Cheiljedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560 Republic of Korea**, (hereinafter referred to as ASSIGNEE), is desirous of acquiring the entire interest in, to, and under said invention and under Patent or similar legal protection to be obtained therefore in Colombia and in any and all foreign countries,

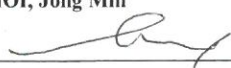
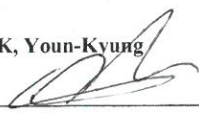
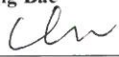
NOW, THEREFORE, TO ALL WHOM IT MAY CONCERN:

Be it known that in consideration for the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of the sum of US\$1.00 (One American Dollar), the receipt of which is hereby acknowledged, and for other good consideration, ASSIGNOR hereby sells, assigns and transfers to ASSIGNEE and the successors and assigns of ASSIGNEE the full and exclusive right, title and interest in and to any invention(s) disclosed in the above-referenced application, including all such right, title and interest for the Colombian territorial possessions and for all foreign countries and further including all rights to claim priority, in and to any and all improvements which are obtained for said invention by said application or any continuation, division, renewal, substitute or reissue thereof or any legal equivalent thereof.

ASSIGNOR hereby covenants that no assignment, sale, agreement or in cumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment and sale. ASSIGNOR further covenants that ASSIGNEE will, upon its request, be provided promptly with all pertinent facts and documents relating to said application, said invention and said Patent and legal equivalents in foreign countries as may be known and accessible to ASSIGNOR and will testify as to the same in any interference or litigation related thereto and will promptly execute and deliver to ASSIGNEE or its legal representative any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue and enforce said application, said invention and said Patent and said equivalents thereof in any foreign country which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

IN WITNESS WHEREOF, today, Feb 7, 2019.

ASSIGNOR

1. (Name) CHOI, Jong Min
 (Sign) 
 Passport number M 55632666
2. (Name) KIM, Su-Jeong
 (Sign) 
 Passport number M 17359643
3. (Name) BAK, Youn-Kyung
 (Sign) 
 Passport number M 12906933
4. (Name) PARK, Jung Gyu
 (Sign) _____
 Passport number _____
5. (Name) BYUN, Sung Bae
 (Sign) 
 Passport number M 13561655
6. (Name) SHIM, Dong Seok
 (Sign) 
 Passport number M 87806068
7. (Name) LEE, In
 (Sign) 
 Passport number M 94053639
8. (Name) PARK, Seung Won
 (Sign) _____
 Passport number _____
9. (Name) JUNG, Dong Chul
 (Sign) _____
 Passport number _____

ASSIGNEE

(Name)

(Sign)

On behalf of

CJ CheilJedang Corporation

H. J. Shin Hyun Jae, SHIN
H. J. SHIN
CJ CHEILJEDANG CORPORATION 16
 PRESIDENT

ASSIGNMENT OF INVENTORSHIP

WHEREAS:

1. **CHOI, Jong Min** citizen located in 103-404, 26, Gwonseon-ro 694beon-gil, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16567 Republic of Korea
2. **KIM, Su-Jeong** citizen located in 46, Edu town-ro 106beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16509 Republic of Korea
3. **BAK, Youn-Kyung** citizen located in 848-805, 26, Yeongtong-ro 290beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16698 Republic of Korea
4. **PARK, Jung Gyu** citizen located in 405-501, 60, Togeumjung-ro, Nam-gu, Incheon 22187 Republic of Korea
5. **BYUN, Sung Bae** citizen located in 104-1308, 70, Yongpo 2-gil, Geumnam-myeon, Sejong 30083 Republic of Korea
6. **SHIM, Dong Seok** citizen located in 108-1002, 2742, Yonggu-daero, Suji-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 16868 Republic of Korea
7. **LEE, In** citizen located in 5413-104, 65, Docheong-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16509 Republic of Korea
8. **PARK, Seung Won** citizen located in 801-2002, 411, Guseong-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 16894 Republic of Korea
9. **JUNG, Dong Chul** citizen located in 101, 23-7, Gangnam-daero 12-gil, Seocho-gu, Seoul 06779 Republic of Korea

hereinafter referred to as ASSIGNOR, has invented and owns a certain invention entitled: **BACTERIAL, FUNGAL, AND YEAST GROWTH INHIBITOR CONTAINING ALLULOSE**

WHEREAS:

CJ CHEILJEDANG CORPORATION, located at **CJ Cheiljedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560 Republic of Korea**, (hereinafter referred to as ASSIGNEE), is desirous of acquiring the entire interest in, to, and under said invention and under Patent or similar legal protection to be obtained therefore in Colombia and in any and all foreign countries,

NOW, THEREFORE, TO ALL WHOM IT MAY CONCERN:

Be it known that in consideration for the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of the sum of US\$1.00 (One American Dollar), the receipt of which is hereby acknowledged, and for other good consideration, ASSIGNOR hereby sells, assigns and transfers to ASSIGNEE and the successors and assigns of ASSIGNEE the full and exclusive right, title and interest in and to any invention(s) disclosed in the above-referenced application, including all such right, title and interest for the Colombian territorial possessions and for all foreign countries and further including all rights to claim priority, in and to any and all improvements which are obtained for said invention by said application or any continuation, division, renewal, substitute or reissue thereof or any legal equivalent thereof.

ASSIGNOR hereby covenants that no assignment, sale, agreement or in cumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment and sale. ASSIGNOR further covenants that ASSIGNEE will, upon its request, be provided promptly with all pertinent facts and documents relating to said application, said invention and said Patent and legal equivalents in foreign countries as may be known and accessible to ASSIGNOR and will testify as to the same in any interference or litigation related thereto and will promptly execute and deliver to ASSIGNEE or its legal representative any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue and enforce said application, said invention and said Patent and said equivalents thereof in any foreign country which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

IN WITNESS WHEREOF, today, 2 . 7, 2019.

ASSIGNOR

1. (Name) **CHOI, Jong Min**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

2. (Name) **KIM, Su-Jeong**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

3. (Name) **BAK, Youn-Kyung**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

4. (Name) **PARK, Jung Gyu**
 (Sign)  _____
 Passport number M3066 5237.

5. (Name) **BYUN, Sung Bae**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

6. (Name) **SHIM, Dong Seok**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

7. (Name) **LEE, In**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

8. (Name) **PARK, Seung Won**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

9. (Name) **JUNG, Dong Chul**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

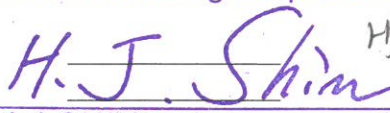
ASSIGNEE

(Name)

(Sign)

On behalf of

CJ CheilJedang Corporation



Hyun Jae, SHIN

CJ CHEILJEDANG CORPORATION
 PRESIDENT

16

ASSIGNMENT OF INVENTORSHIP

WHEREAS:

1. **CHOI, Jong Min** citizen located in 103-404, 26, Gwonseon-ro 694beon-gil, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16567 Republic of Korea
2. **KIM, Su-Jeong** citizen located in 46, Edu town-ro 106beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16509 Republic of Korea
3. **BAK, Youn-Kyung** citizen located in 848-805, 26, Yeongtong-ro 290beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16698 Republic of Korea
4. **PARK, Jung Gyu** citizen located in 405-501, 60, Togeumjung-ro, Nam-gu, Incheon 22187 Republic of Korea
5. **BYUN, Sung Bae** citizen located in 104-1308, 70, Yongpo 2-gil, Geumnam-myeon, Sejong 30083 Republic of Korea
6. **SHIM, Dong Seok** citizen located in 108-1002, 2742, Yonggu-daero, Suji-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 16868 Republic of Korea
7. **LEE, In** citizen located in 5413-104, 65, Docheong-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16509 Republic of Korea
8. **PARK, Seung Won** citizen located in 801-2002, 411, Guseong-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 16894 Republic of Korea
9. **JUNG, Dong Chul** citizen located in 101, 23-7, Gangnam-daero 12-gil, Seocho-gu, Seoul 06779 Republic of Korea

hereinafter referred to as ASSIGNOR, has invented and owns a certain invention entitled: **BACTERIAL, FUNGAL, AND YEAST GROWTH INHIBITOR CONTAINING ALLULOSE**

WHEREAS:

CJ CHEILJEDANG CORPORATION, located at **CJ Cheiljedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560 Republic of Korea**, (hereinafter referred to as ASSIGNEE), is desirous of acquiring the entire interest in, to, and under said invention and under Patent or similar legal protection to be obtained therefore in Colombia and in any and all foreign countries,

NOW, THEREFORE, TO ALL WHOM IT MAY CONCERN:

Be it known that in consideration for the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of the sum of US\$1.00 (One American Dollar), the receipt of which is hereby acknowledged, and for other good consideration, ASSIGNOR hereby sells, assigns and transfers to ASSIGNEE and the successors and assigns of ASSIGNEE the full and exclusive right, title and interest in and to any invention(s) disclosed in the above-referenced application, including all such right, title and interest for the Colombian territorial possessions and for all foreign countries and further including all rights to claim priority, in and to any and all improvements which are obtained for said invention by said application or any continuation, division, renewal, substitute or reissue thereof or any legal equivalent thereof.

ASSIGNOR hereby covenants that no assignment, sale, agreement or in cumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment and sale. ASSIGNOR further covenants that ASSIGNEE will, upon its request, be provided promptly with all pertinent facts and documents relating to said application, said invention and said Patent and legal equivalents in foreign countries as may be known and accessible to ASSIGNOR and will testify as to the same in any interference or litigation related thereto and will promptly execute and deliver to ASSIGNEE or its legal representative any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue and enforce said application, said invention and said Patent and said equivalents thereof in any foreign country which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

IN WITNESS WHEREOF, today, Feb 7, 2019.

ASSIGNOR

1. (Name)	CHOI, Jong Min
(Sign)	_____
Passport number	_____.
2. (Name)	KIM, Su-Jeong
(Sign)	_____
Passport number	_____.
3. (Name)	BAK, Youn-Kyung
(Sign)	_____
Passport number	_____.
4. (Name)	PARK, Jung Gyu
(Sign)	_____
Passport number	_____.
5. (Name)	BYUN, Sung Bae
(Sign)	_____
Passport number	_____.
6. (Name)	SHIM, Dong Seok
(Sign)	_____
Passport number	_____.
7. (Name)	LEE, In
(Sign)	_____
Passport number	_____.
8. (Name)	PARK, Seung Won
(Sign)	_____
Passport number	_____.
9. (Name)	JUNG, Dong Chul
(Sign)	 _____
Passport number	M 45897863_____.

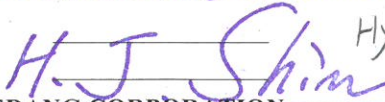
ASSIGNEE

(Name)

(Sign)

On behalf of

CJ CheilJedang Corporation


CJ CHEILJEDANG CORPORATION
H.J. SHIN
PRESIDENT

Hyun Jae, SHIN

16

ASSIGNMENT OF INVENTORSHIP

WHEREAS:

1. **CHOI, Jong Min** citizen located in 103-404, 26, Gwonseon-ro 694beon-gil, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16567 Republic of Korea
2. **KIM, Su-Jeong** citizen located in 46, Edu town-ro 106beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16509 Republic of Korea
3. **BAK, Youn-Kyung** citizen located in 848-805, 26, Yeongtong-ro 290beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16698 Republic of Korea
4. **PARK, Jung Gyu** citizen located in 405-501, 60, Togeumjung-ro, Nam-gu, Incheon 22187 Republic of Korea
5. **BYUN, Sung Bae** citizen located in 104-1308, 70, Yongpo 2-gil, Geumnam-myeon, Sejong 30083 Republic of Korea
6. **SHIM, Dong Seok** citizen located in 108-1002, 2742, Yonggu-daero, Suji-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 16868 Republic of Korea
7. **LEE, In** citizen located in 5413-104, 65, Docheong-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16509 Republic of Korea
8. **PARK, Seung Won** citizen located in 801-2002, 411, Guseong-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 16894 Republic of Korea
9. **JUNG, Dong Chul** citizen located in 101, 23-7, Gangnam-daero 12-gil, Seocho-gu, Seoul 06779 Republic of Korea

hereinafter referred to as ASSIGNOR, has invented and owns a certain invention entitled: **BACTERIAL, FUNGAL, AND YEAST GROWTH INHIBITOR CONTAINING ALLULOSE**

WHEREAS:

CJ CHEILJEDANG CORPORATION, located at **CJ Cheiljedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560 Republic of Korea**, (hereinafter referred to as ASSIGNEE), is desirous of acquiring the entire interest in, to, and under said invention and under Patent or similar legal protection to be obtained therefore in Colombia and in any and all foreign countries,

NOW, THEREFORE, TO ALL WHOM IT MAY CONCERN:

Be it known that in consideration for the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of the sum of US\$1.00 (One American Dollar), the receipt of which is hereby acknowledged, and for other good consideration, ASSIGNOR hereby sells, assigns and transfers to ASSIGNEE and the successors and assigns of ASSIGNEE the full and exclusive right, title and interest in and to any invention(s) disclosed in the above-referenced application, including all such right, title and interest for the Colombian territorial possessions and for all foreign countries and further including all rights to claim priority, in and to any and all improvements which are obtained for said invention by said application or any continuation, division, renewal, substitute or reissue thereof or any legal equivalent thereof.

ASSIGNOR hereby covenants that no assignment, sale, agreement or in cumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment and sale. ASSIGNOR further covenants that ASSIGNEE will, upon its request, be provided promptly with all pertinent facts and documents relating to said application, said invention and said Patent and legal equivalents in foreign countries as may be known and accessible to ASSIGNOR and will testify as to the same in any interference or litigation related thereto and will promptly execute and deliver to ASSIGNEE or its legal representative any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue and enforce said application, said invention and said Patent and said equivalents thereof in any foreign country which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

IN WITNESS WHEREOF, today, Feb 7, 2019.

ASSIGNOR

1. (Name) **CHOI, Jong Min**
 (Sign) _____
 Passport number _____.
2. (Name) **KIM, Su-Jeong**
 (Sign) _____
 Passport number _____.
3. (Name) **BAK, Youn-Kyung**
 (Sign) _____
 Passport number _____.
4. (Name) **PARK, Jung Gyu**
 (Sign) _____
 Passport number _____.
5. (Name) **BYUN, Sung Bae**
 (Sign) _____
 Passport number _____.
6. (Name) **SHIM, Dong Seok**
 (Sign) _____
 Passport number _____.
7. (Name) **LEE, In**
 (Sign) _____
 Passport number _____.
8. (Name) **PARK, Seung Won**
 (Sign) *[Signature]*
 Passport number *110274840*.
9. (Name) **JUNG, Dong Chul**
 (Sign) _____
 Passport number _____.

ASSIGNEE

(Name)

(Sign)

On behalf of

CJ CheilJedang Corporation

H. J. Shin
CJ CHEILJEDANG CORPORATION
 H. J. SHIN
 PRESIDENT

Hyun Tae, SHIN

16

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor del crecimiento para un microorganismo, caracterizado porque comprende:

5 sacáridos que contienen alulosa,

 en donde el microorganismo comprende al menos uno seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y levaduras:

 (i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
10 como bacterias;

 (ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y

 (iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

15

2. El inhibidor del crecimiento de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la alulosa está presente en una cantidad de 50 partes en peso a 100 partes en peso con respecto a 100 partes en peso de sacáridos con base en el contenido de sólidos secos.

20

3. El inhibidor del crecimiento de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque los sacáridos están libres de sacarosa, glucosa o una combinación de las mismas.

4. Una bebida alcohólica fermentada caracterizada porque comprende el inhibidor del crecimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

5 5. La bebida alcohólica fermentada de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque la bebida alcohólica fermentada es makgeolli o vino.

10 6. La bebida alcohólica fermentada de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque la bebida alcohólica fermentada se fermenta usando al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y levaduras:

(i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* como bacterias;

15 (ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y

(iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

20 7. La bebida alcohólica fermentada de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque la bebida alcohólica fermentada comprende al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y levaduras:

(i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* como bacterias;

(ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y

5 (iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

8. Un método para inhibir la post-fermentación de una bebida
alcohólica fermentada, caracterizado porque comprende: añadir el
10 inhibidor del crecimiento de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 3 a la bebida alcohólica fermentada.

RESUMEN DE LA INVENCION

En el presente documento se describe un inhibidor del crecimiento de microorganismos que incluye sacáridos que contienen
5 alulosa y una bebida alcohólica fermentada que comprende el mismo.

**INHIBIDOR DEL CRECIMIENTO DE BACTERIAS, HONGOS Y
LEVADURAS QUE CONTIENE ALULOSA**

CAMPO DE LA INVENCION

5

La presente invención se refiere a un inhibidor del crecimiento para bacterias, hongos y levaduras que comprenden sacáridos que contienen alulosa.

10

DESCRIPCION DE LA TECNICA RELACIONADA

15

Los alimentos fermentados son ricos en microorganismos vivos y se someten continuamente a fermentación. A medida que pasa el tiempo, la cantidad de microorganismos en los alimentos fermentados ha cambiado dramáticamente, causando cambios en la calidad tales como los cambios en el contenido de alcohol o el sabor. Así, la distribución y venta de los alimentos fermentados fueron limitados.

20

Particularmente, el makgeolli crudo, que es una bebida fermentada, tiene una vida en anaquel muy corta de 7 a 10 días, y entonces es sustancialmente difícil mantener a la venta por periodos largos. Además, el vino, una bebida alcohólica fermentada, no se mantiene constante en calidad debido a la post-fermentación, y por lo tanto requiere un proceso de esterilización o instalaciones para el

almacenamiento a baja temperatura para evitar que dicho cambio de calidad cause un deterioro en las propiedades sensoriales o aumentos de costos.

Los presentes inventores han hecho esfuerzos para inhibir la
5 post-fermentación de las bebidas alcohólicas fermentadas. Como
resultado, los presentes inventores encontraron que la adición de alulosa
puede inhibir el crecimiento de hongos (por ejemplo, *Aspergillus oryzae*,
Asp. Awamori, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae*),
bacterias (por ejemplo, *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp.
10 *lactis*) y levaduras (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*) usadas para
la fermentación de makgeolli y el crecimiento de levaduras (por ejemplo,
Saccharomyces cerevisiae y *Saccharomyces pastorianus*) usadas para la
fermentación de vino, lo que inhibe la post-fermentación de alimentos
fermentados (por ejemplo, bebidas alcohólicas fermentadas como
15 makgeolli y vino), y así completaron la presente invención.

Literatura relacionada

Documento de patente

Patente Coreana No. 10-1352025

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Problema técnico

Un objeto de la presente invención es proporcionar un
5 inhibidor del crecimiento para un microorganismo que incluya sacáridos
que contengan alulosa.

Otro objeto de la presente solicitud es proporcionar una
bebida alcohólica fermentada que incluya el inhibidor del crecimiento.

Un objeto adicional de la presente solicitud es proporcionar
10 un método para inhibir la post-fermentación de una bebida alcohólica
fermentada, que incluye añadir el inhibidor del crecimiento a la bebida
alcohólica fermentada.

Solución técnica

15 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, un
inhibidor del crecimiento para un microorganismo incluye sacáridos que
contienen alulosa, en donde el microorganismo incluye al menos uno
seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y
levaduras:

20 (i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
como bacterias;

(ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus*
purpureus, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y

(iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

La alulosa usada en el presente documento puede extraerse directamente de productos naturales, o puede sintetizarse química o biológicamente, sin limitarse a ellos. Además, la alulosa se puede proporcionar en forma de cristal o en forma de jarabe que contenga alulosa (es decir, en forma líquida).

La alulosa puede estar presente en una cantidad de 50 partes en peso a 100 partes en peso con respecto a 100 partes en peso de los sacáridos en términos de contenido de sólido seco (DS). Específicamente, la alulosa puede estar presente en una cantidad de 70 partes en peso a 100 partes en peso, 90 partes en peso a 100 partes en peso, 95 partes en peso a 100 partes en peso, 98 partes en peso a 100 partes en peso 98.5 partes en peso a 100 partes en peso, 99 partes en peso a 100 partes en peso, o 99.5 partes en peso a 100 partes en peso, con respecto a 100 partes en peso de sacáridos en términos de contenido de sólidos secos.

Los sacáridos pueden incluir además al menos un edulcorante, aparte de la alulosa. Ejemplos del edulcorante pueden incluir cualquier edulcorante conocido (por ejemplo, monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, alcoholes de azúcar y edulcorantes de alta potencia), sin limitarse a ellos. Ejemplos de monosacáridos pueden incluir arabinosa, xilosa, fructosa, tagatosa, lactosa y galactosa. Los

disacáridos se refieren a un grupo de carbohidratos que consisten en dos unidades de monosacáridos unidas entre sí, y sus ejemplos pueden incluir lactosa, maltosa, trehalosa, turanosa y celobiosa. Los oligosacáridos se refieren a un grupo de carbohidratos que consisten en 3 o más unidades de monosacáridos unidas entre sí, y sus ejemplos pueden incluir fructooligosacáridos, isomaltooligosacáridos, xilooligosacáridos, gentiooligosacáridos, maltooligosacáridos y galactooligosacáridos. Los alcoholes de azúcar se refieren a compuestos obtenidos al reducir un grupo carbonilo en sacáridos, y sus ejemplos pueden incluir eritritol, xilitol, arabitol, manitol, sorbitol, maltitol y lactitol. Los edulcorantes de alta potencia se refieren a edulcorantes que tienen un dulzor diez veces mayor que el de la sacarosa, y sus ejemplos pueden incluir aspartame, acesulfame K, rebaudiósido A y sucralosa, sin limitarse a ellos. En otra modalidad, los sacáridos de acuerdo con la presente invención pueden estar libres de sacarosa, glucosa o una combinación de los mismos.

El inhibidor del crecimiento puede inhibir el crecimiento de *Lactobacillus casei* o *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, de modo que el número de colonias de células individuales medido después del cultivo en medio MRS a 37°C durante 12, 24 ó 48 horas sea del 300% o menos, 200% o menos, 180% o menos, 150% o menos, 130% o menos, 120% o menos, o 100% o menos del número inicial de colonias de células individuales cultivadas durante 0 horas.

El inhibidor del crecimiento puede inhibir el crecimiento de *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* o *Rhizopus oryzae*, de manera tal que el número de colonias de células individuales medido después del cultivo en medio PD a 25°C durante 24, 48 ó 72 horas sea de 3,500% o menos, 2,000% o menos, 500% o menos, 400% o menos, 300% o menos, 200% o menos, 180% o menos, 150% o menos, 130% o menos, 120% o menos, 110% o menos, o 100% o menos del número inicial de colonias de células individuales cultivadas durante 0 horas.

El inhibidor del crecimiento puede inhibir el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomyces pastorianus* de manera tal que el número de colonias de células individuales medido después del cultivo en medio YM a 25°C durante 24, 48 ó 72 horas sea del 400% o menos, 350% o menos, 300% o menos, 200% o menos, 150% o menos, 130% o menos, 120% o menos, 110% o menos, o 100% o menos del número inicial de colonias de células individuales cultivadas durante 0 horas.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, una bebida alcohólica fermentada incluye el inhibidor del crecimiento de acuerdo con la presente invención.

La bebida alcohólica fermentada puede incluir cualquier bebida alcohólica fermentada conocida obtenida inoculando un microorganismo productor de alcohol en una fruta o cereal, seguido de

fermentación en condiciones específicas. Específicamente, la bebida alcohólica fermentada de acuerdo con la presente invención puede ser makgeolli, dongdongju, takju, vino o cerveza, más específicamente makgeolli o vino.

5 La bebida alcohólica fermentada puede ser una bebida alcohólica fermentada por al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y levaduras: (i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* como bacterias; (ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus*
10 *ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y (iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

 La bebida alcohólica fermentada puede ser una bebida alcohólica fermentada que incluya al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y
15 levaduras: (i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* como bacterias; (ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y (iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

 La bebida alcohólica fermentada puede incluir además
20 ingredientes alimenticios comúnmente usados en una bebida alcohólica fermentada. Específicamente, la bebida alcohólica fermentada de acuerdo con la presente invención puede incluir además al menos un ingrediente alimenticio seleccionado del grupo que consiste en agua

purificada, oligosacáridos, arroz, almidón (por ejemplo, maltodextrina), gas dióxido de carbono, aspartame, un ácido orgánico (por ejemplo, ácido cítrico) y un extracto vegetal.

En la bebida alcohólica fermentada, el inhibidor del
5 crecimiento, la alulosa, los sacáridos, las bacterias, los hongos y las levaduras son los mismos que los que se describieron anteriormente.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, un método para inhibir la post-fermentación de una bebida alcohólica fermentada incluye añadir el inhibidor del crecimiento de
10 acuerdo con la presente invención a la bebida alcohólica fermentada.

Ahora, las modalidades de la presente invención se describirán con más detalle a través de un método para preparar una bebida alcohólica fermentada. Ejemplos de la bebida alcohólica fermentada incluyen makgeolli y vino representativos como los
15 anteriores. Primero, las modalidades de la presente invención se describirán con más detalle a través de un método para preparar makgeolli que incluye los siguientes pasos:

- (1) preparar un licor madre mediante la fermentación de un material de almidón crudo o cocido usando bacterias, levaduras u hongos;
- 20 (2) triturar el licor madre preparado en el paso (1) agregando un material de almidón, un agente de sacarificación y agua;
- (3) fermentar el producto triturado obtenido en el paso (2), seguido de añejamiento;

(4) eliminar los sólidos de almidón no disueltos tamizando el producto añejado obtenido en el paso (3); y

(5) preparar un producto final mediante la adición de alulosa, sacáridos y agua al producto tamizado obtenido en el paso (4).

5 Como en el método anterior para preparar makgeolli, ya que un método para inhibir la post-fermentación de una bebida alcohólica fermentada distinta de makgeolli, como el vino, de acuerdo con la presente invención es sustancialmente el mismo que un método típico de producción de vino, excepto que los sacáridos y la alulosa de acuerdo con
10 la presente invención se añaden en lugar de los sacáridos o edulcorantes típicos, se omitirá la descripción de los mismos.

 En el método para inhibir la post-fermentación de una bebida alcohólica fermentada, el inhibidor del crecimiento, la alulosa, los sacáridos, las bacterias, los hongos y las levaduras son los mismos que
15 los que se describieron anteriormente.

Efectos adecuados

 De acuerdo con la presente invención, es posible inhibir el crecimiento de microorganismos en una bebida alcohólica fermentada, inhibiendo así la post-fermentación de la bebida alcohólica fermentada.
20 Específicamente, cuando se usa alulosa en lugar de sacáridos, tal como la sacarosa, comúnmente agregada a las bebidas alcohólicas fermentadas como el makgeolli o el vino, la presente invención puede obtener los

efectos para prevenir el deterioro de la calidad involuntario que puede ocurrir durante el almacenamiento o la distribución de bebidas alcohólicas fermentadas y para eliminar la necesidad de un proceso o dispositivo separado para mejorar la estabilidad bajo almacenamiento, simplificando así el proceso de fabricación y reduciendo los costos de fabricación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

10 Las figuras 1 y 2 son gráficas que muestran los valores de CFU dependientes del tiempo para objetivos bacterianos (*Lactobacillus casei* (Fig. 1) y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (Fig. 2)), medidos en muestras de ejemplos comparativos que usan glucosa o sacarosa como sacáridos y muestras de ejemplos que usan alulosa como sacáridos.

15 Las figuras 3 a 7 son gráficas que muestran valores de CFU dependientes del tiempo para objetivos de hongos (*Aspergillus oryzae* (Fig. 3), *Aspergillus awamori* (Fig. 4), *Monascus purpureus* (Fig. 5), *Monascus ruber* (Fig. 6) y *Rhizopus oryzae* (Fig. 7)), medidos en muestras de ejemplos comparativos que usan glucosa o sacarosa como
20 sacáridos y muestras de ejemplos que usan alulosa como sacáridos.

Las figuras 8 y 9 son gráficas que muestran los valores de CFU dependientes del tiempo para objetivos de levadura (*Saccharomyces cerevisiae* (Fig. 8) y *Saccharomyces pastorianus* (Fig. 9)), medidos en

muestras de ejemplos comparativos que usan glucosa o sacarosa como sacáridos y muestras de ejemplos que usan alulosa como sacáridos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

5

De aquí en adelante, la presente invención se describirá con más detalle con referencia a ejemplos. Sin embargo, debe señalarse que estos ejemplos se proporcionan solo a modo de ilustración y no deben interpretarse de ninguna manera como limitantes de la invención.

10 Además, estos ejemplos se proporcionan para una comprensión más completa de la presente invención por un experto en la técnica.

EJEMPLOS

**Ejemplo experimental 1: preparación de microorganismos
15 y medios para la fermentación de bebidas alcohólicas fermentadas**

Con el fin de evaluar la inhibición de la post-fermentación de bebidas alcohólicas fermentadas, se determinó un grado de inhibición del crecimiento de microorganismos comúnmente usados en bebidas alcohólicas fermentadas.

20 Específicamente, cada uno de los microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) obtenidos del Centro de Cultivos de Microorganismos de Corea (KCCM) se subcultivó tres o cuatro veces en un medio de cultivo (Tabla 1) mediante un método típico para mejorar la

actividad. Luego, el microorganismo cultivado se inoculó en un medio de cultivo (Tabla 1), seguido de un sobre-cultivo a una concentración de 10^5 CFU/mL o más, obteniendo así un de licor madre de cepa (Tabla 1).

5 **Tabla 1**

	Artículo	Nombre	KCCM	ATCC	Medio de cultivo
	Bacteria	<i>Lactobacillus casei</i>	12452	393	LACTOBACILOS MRS (MRS)
10		<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	41573	15577	LACTOBACILOS MRS (MRS)
	Hongo	<i>Aspergillus oryzae</i>	12698	1011	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
15		<i>Aspergillus awamori</i>	60247	14331	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
		<i>Monascus purpureus</i>	35473	16365	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
20		<i>Monascus ruber</i>	11845	16378	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
		<i>Rhizopus oryzae</i>	11697	4858	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
	Levadura	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11304	9080	CALDO DE MOHO DE

5				LEVADURA (YMB)
	<i>Saccharomyces pastorianus</i>	11523	2345	CALDO DE MOHO DE LEVADURA (YMB)

Ejemplo experimental 2: confirmación del crecimiento de microorganismos dependiendo de la composición de los sacáridos

Con el fin de comparar los grados de inhibición del crecimiento de microorganismos dependiendo del tipo de sacáridos puramente agregados sin un sesgo debido al alcohol y otros aditivos contenidos en una bebida alcohólica fermentada, solo el tipo de sacáridos agregados a un medio de cultivo para cada uno de los microorganismos fue variado e investigado.

Específicamente, como sacáridos de un medio de cultivo adecuado para cada cepa, glucosa cristalina que contiene agua (pureza del 98% en peso o más, CJ Cheiljedang), sacarosa (pureza del 98% en peso o más, CJ Cheiljedang) y alulosa cristalina (pureza: 98% en peso o más, CJ Cheiljedang) se añadieron a cada uno de los medios de cultivo, preparando así un medio de cultivo modificado (Tablas 2 a 4). Luego, se inocularon 100 mL del medio de cultivo modificado preparado con 1 mL del licor madre de cada cepa preparada en el Ejemplo Experimental 1, seguido de la observación de cambios dependientes del tiempo en el

número de células de cada cepa. Es decir, los medios MRS como los indicados en la Tabla 2, los medios PDB como los indicados en la Tabla 3 y los medios YMB como los indicados en la Tabla 4 se inocularon con bacterias (*Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), hongos (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae*) y levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus*), respectivamente, de la misma manera. Luego, cada uno de los medios inoculados con las bacterias se almacenó a 37°C durante 12, 24 y 48 horas para ser usado como una muestra para medir el número de colonias de células individuales, y cada uno de los medios inoculados con los hongos o levaduras se almacenó a 25°C durante 24, 48 y 72 horas para ser usado como una muestra para medir el número de colonias de células individuales.

La medición del número de colonias de células individuales se llevó a cabo mediante un ensayo de microorganismos típico. Específicamente, 1 mL de cada muestra se diluyó gradualmente con 9 mL de solución salina fisiológica esterilizada al 0.9% mediante un método de dilución 10 veces, obteniendo así una muestra diluida. Después de eso, se colocó 1 mL de la muestra diluida en una placa de Petri y se vertieron 25 mL de un medio de cultivo normal con agar agregado a la placa de Petri para que fuera suficientemente mezclado y solidificado, obteniendo así una muestra inoculada. Aquí, como el medio de cultivo normal con

agar agregado, se usaron MRSA, PDA e YMA para las bacterias, los hongos y las levaduras, respectivamente.

Posteriormente, el número medido de colonias de células se multiplicó por un factor de dilución, calculando así el valor de unidades formadoras de colonias (UFC) por mL de muestra.

Tabla 2

Bacteria		
10	Ejemplo Comparativo 1-1	Ejemplo Comparativo 1-2
	Proteasa peptona, 10.0 g	Proteasa peptona, 10.0 g
15	Extracto de res, 8.0 g	Extracto de res, 8.0 g
	Extracto de levadura, 4.0 g	Extracto de levadura, 4.0 g
20	Polisorbato (Tween 80), 1.0 g	Polisorbato (Tween 80), 1.0 g
	Citrato de amonio, 2.0 g	Citrato de amonio, 2.0 g
	Acetato de sodio, 5.0 g	Acetato de sodio, 5.0 g

5	K ₂ HPO ₄ , 2.0 g	K ₂ HPO ₄ , 2.0 g	K ₂ HPO ₄ , 2.0 g
	MgSO ₄ *7H ₂ O, 0.1 g	MgSO ₄ *7H ₂ O, 0.1 g	MgSO ₄ *7H ₂ O, 0.1 g
	MnSO ₄ *4H ₂ O, 0.05 g	MnSO ₄ *4H ₂ O, 0.05 g	MnSO ₄ *4H ₂ O, 0.05 g
	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L
	Glucosa, 20.0 g	Sucrosa, 20.0 g	Alulosa, 20.0 g

Tabla 3

10	Hongo		
	Ejemplo Comparativo 2-1	Ejemplo Comparativo 2-2	Ejemplo 2
	ALMIDÓN DE PAPA, 4.0g	ALMIDÓN DE PAPA, 4.0g	ALMIDÓN DE PAPA, 4.0g
	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L
15	Glucosa, 20.0 g	Sucrosa, 20.0 g	Alulosa, 20.0 g

Tabla 4

Levadura		
Ejemplo Comparativo 3-1	Ejemplo Comparativo 3-2	Ejemplo 3
5 Extracto de levadura, 3.0 g	Extracto de levadura, 3.0 g	Extracto de levadura, 3.0 g
Extracto de malta, 3.0 g	Extracto de malta, 3.0 g	Extracto de malta, 3.0 g
10 Peptona, 5.0 g	Peptona, 5.0 g	Peptona, 5.0 g
Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L
Glucosa, 10.0 g	Sucrosa, 10.0 g	Alulosa, 10.0 g

Como resultado, se confirmó que el número de colonias
 15 celulares de las nueve cepas de los Ejemplos 1 a 3 que usan alulosa como
 sacáridos fue significativamente menor que el de las cepas de los
 Ejemplos comparativos. Además, se confirmó que las cepas de los
 Ejemplos comparativos 1-1, 2-1 y 3-1 que usan glucosa como sacáridos
 como en un medio de cultivo típico mostraron un alto grado de
 20 crecimiento de microorganismos y las cepas de los Ejemplos
 comparativos 1-2, 2-2 y 3-2 que usan sacarosa como sacáridos mostraron

un grado de crecimiento de microorganismos no significativamente diferente al de las cepas inoculadas usando glucosa como sacáridos.

Específicamente, *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, como bacterias, en un medio de cultivo que usa glucosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 1-1) y un medio de cultivo que usa sacarosa como sacáridos (Ejemplo Comparativo 1-2) aumentaron en el número de células de 40.6 a 137 veces. A la inversa, las bacterias en un medio de cultivo que usaba alulosa como sacáridos aumentaron en el número de células solo de 1.3 a 2.2 veces. Por lo tanto, se observó sustancialmente ningún crecimiento de cepas (Figs. 1 y 2).

Además, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae*, como hongos, aumentaron en el número de células de 9.8 a 148.5 veces en un medio de cultivo usando glucosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 2-1) y 5.9 a 81.1 veces en un medio de cultivo usando sacarosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 2-2), respectivamente. A la inversa, los hongos aumentaron en número de células solo de 1.6 a 9.8 veces en un medio de cultivo usando alulosa como sacáridos (Ejemplo 2). Por lo tanto, se observó una inhibición estadísticamente significativa del crecimiento de microorganismos (Figs. 3 a 7).

Finalmente, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus*, como levaduras, en un medio de cultivo que usa glucosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 3-1) y un medio de cultivo que usa

sacarosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 3-2) aumentaron en número de células de 27.4 a 134.8 veces. Por el contrario, las levaduras en un medio de cultivo que usan alulosa como sacáridos aumentaron en el número de células solo de 1.3 a 3 veces. Por lo tanto, se observó sustancialmente ningún crecimiento de cepas (Figs. 8 y 9).

Para cada una de las cepas, el número de colonias individuales se midió después del cultivo durante 0, 12, 24, 48 y 72 horas en cada uno de los medios de cultivo. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

10

Tabla 5

15

20

Cepa	Clasificación dependiente de medio	0 horas	12 horas	24 horas	48 horas	Medio de cultivo (sacáridos)
<i>Lactobacillus casei</i>	Ejemplo Comparativo 1-1	1.5 X 10 ⁷	1.7 X 10 ⁸	7.3 X 10 ⁸	1.1 X 10 ⁹	MRS (glucosa)
	Ejemplo Comparativo 1-2	1.5 X 10 ⁷	4.5 X 10 ⁷	3.9 X 10 ⁸	4.0 X 10 ⁸	MRS (sucrosa)
	Ejemplo 1	1.5 X 10 ⁷	1.5 X 10 ⁷	1.8 X 10 ⁷	2.0 X 10 ⁷	MRS (alulosa)
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	Ejemplo Comparativo 1-1	2.4 X 10 ⁷	7.0 X 10 ⁸	3.6 X 10 ⁹	3.3 X 10 ⁹	MRS (glucosa)
	Ejemplo	2.4 X	1.8 X	4.8 X 10 ⁸	9.7 X	MRS

5		Comparativo 1-2	10^7	10^8		10^8	(sucrosa)
		Ejemplo 1	2.4×10^7	4.2×10^7	4.6×10^7	5.2×10^7	MRS (alulosa)
	Cepa	Clasificación dependiente de medio	0 horas	12 horas	24 horas	48 horas	medio de cultivo
	<i>Aspergillus oryzae</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	5.3×10^8	8.7×10^8	3.0×10^9	5.2×10^9	PDB (glucosa)
10		Ejemplo Comparativo 2-2	5.3×10^8	1.0×10^9	2.7×10^9	3.1×10^9	PDB (sucrosa)
		Ejemplo 2	5.3×10^8	5.7×10^8	1.9×10^9	1.7×10^9	PDB (alulosa)
15	<i>Aspergillus awamori</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	2.6×10^7	7.2×10^7	2.4×10^9	3.3×10^9	PDB (glucosa)
		Ejemplo Comparativo 2-2	2.6×10^7	4.0×10^7	1.3×10^9	2.1×10^9	PDB (sucrosa)
		Ejemplo 2	2.6×10^7	4.8×10^7	4.9×10^8	8.6×10^8	PDB (alulosa)
	<i>Monascus purpureus</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	6.4×10^7	1.1×10^8	9.9×10^8	8.6×10^8	PDB (glucosa)
20		Ejemplo Comparativo 2-2	6.4×10^7	5.9×10^7	3.8×10^8	5.6×10^8	PDB (sucrosa)

5		Ejemplo 2	6.4 X 10 ⁷	6.3 X 10 ⁷	2.5 X 10 ⁸	3.1 X 10 ⁸	PDB (alulosa)
	<i>Monascus ruber</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	1.0 X 10 ⁷	6.8 X 10 ⁸	1.5 X 10 ⁹	8.0 X 10 ⁸	PDB (glucosa)
		Ejemplo Comparativo 2-2	1.0 X 10 ⁷	7.7 X 10 ⁷	1.6 X 10 ⁸	2.4 X 10 ⁸	PDB (sucrosa)
		Ejemplo 2	1.0 X 10 ⁷	2.3 X 10 ⁷	1.0 X 10 ⁷	1.6 X 10 ⁷	PDB (alulosa)
	<i>Rhizopus oryzae</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	3.7 X 10 ⁶	1.1 X 10 ⁷	2.1 X 10 ⁸	1.3 X 10 ⁸	PDB (glucosa)
10		Ejemplo Comparativo 2-2	3.7 X 10 ⁶	7.4 X 10 ⁶	8.9 X 10 ⁷	1.2 X 10 ⁸	PDB (sucrosa)
		Ejemplo 2	3.7 X 10 ⁶	6.4 X 10 ⁶	2.5 X 10 ⁷	3.6 X 10 ⁷	PDB (alulosa)
	<i>Saccharo myces cerevisiae</i>	Ejemplo Comparativo 3-1	3.5 X 10 ⁹	7.7 X 10 ⁹	5.3 X 10 ¹⁰	1.3 X 10 ¹¹	YMB (glucosa)
		Ejemplo Comparativo 3-2	3.5 X 10 ⁹	5.6 X 10 ⁹	4.8 X 10 ¹⁰	9.7 X 10 ¹⁰	YMB (sucrosa)
		Ejemplo 3	3.5 X 10 ⁹	3.9 X 10 ⁹	2.9 X 10 ⁹	4.5 X 10 ⁹	YMB (alulosa)
20	<i>Saccharo myces pastorian</i>	Ejemplo Comparativo 3-1	2.7 X 10 ⁸	6.4 X 10 ⁹	1.0 X 10 ¹⁰	3.6 X 10 ¹⁰	YMB (glucosa)

5

<i>us</i>						
	Ejemplo Comparativo 3-2	2.7 X 10 ⁸	2.6 X 10 ⁹	2.6 X 10 ⁹	8.6 X 10 ⁹	YMB (sucrosa)
	Ejemplo 3	2.7 X 10 ⁸	4.0 X 10 ⁸	8.9 X 10 ⁸	8.0 X 10 ⁸	YMB (alulosa)

10 En conclusión, se puede ver que, cuando se usa alulosa en lugar de la sacarosa comúnmente usada como edulcorante agregado a bebidas alcohólicas fermentadas como el makgeolli, es posible reducir la post-fermentación causada por el crecimiento de microorganismos que puede ocurrir durante la producción o distribución de las bebidas alcohólicas fermentadas.

15 Aunque algunos ejemplos de modalidad se han descrito en el presente documento, los expertos en la materia deberían entender que estas modalidades se ofrecen solo a modo de ilustración, y que se pueden hacer diversas modificaciones, variaciones y alteraciones sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. Por lo tanto, las modalidades y los dibujos adjuntos no deben interpretarse como limitantes del espíritu técnico de la presente invención, sino que deben interpretarse como
20 ilustrativos del espíritu técnico de la presente invención. El alcance de la invención debe interpretarse de acuerdo con las siguientes reivindicaciones adjuntas que cubre todas las modificaciones o variaciones derivadas de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor del crecimiento para un microorganismo, caracterizado porque comprende:

5 sacáridos que contienen alulosa,

 en donde el microorganismo comprende al menos uno
seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y
levaduras:

 (i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
10 como bacterias;

 (ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus*
purpureus, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y

 (iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus*
15 como levaduras.

2. El inhibidor del crecimiento de conformidad con la
reivindicación 1, caracterizado porque la alulosa está presente en una
cantidad de 50 partes en peso a 100 partes en peso con respecto a 100
partes en peso de sacáridos con base en el contenido de sólidos secos.

20

3. El inhibidor del crecimiento de conformidad con la
reivindicación 1, caracterizado porque los sacáridos están libres de
sacarosa, glucosa o una combinación de las mismas.

4. Una bebida alcohólica fermentada caracterizada porque comprende el inhibidor del crecimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

5 5. La bebida alcohólica fermentada de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque la bebida alcohólica fermentada es makgeolli o vino.

10 6. La bebida alcohólica fermentada de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque la bebida alcohólica fermentada se fermenta usando al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y levaduras:

(i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* como bacterias;

15 (ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y

(iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

20 7. La bebida alcohólica fermentada de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque la bebida alcohólica fermentada comprende al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y levaduras:

(i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* como bacterias;

(ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y

5 (iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

8. Un método para inhibir la post-fermentación de una bebida
alcohólica fermentada, caracterizado porque comprende: añadir el
10 inhibidor del crecimiento de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 3 a la bebida alcohólica fermentada.

RESUMEN DE LA INVENCION

En el presente documento se describe un inhibidor del crecimiento de microorganismos que incluye sacáridos que contienen
5 alulosa y una bebida alcohólica fermentada que comprende el mismo.

Power of Attorney in Industrial Property Proceedings

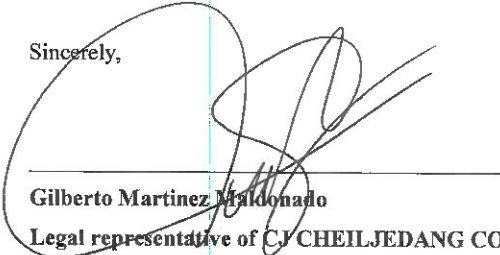
From: **CJ CHEILJEDANG CORPORATION**

To: **Mónica Wolf Wasserman and/or Jesús M. Méndez Bermúdez**

I, Gilberto Martinez Maldonado, acting in the name and on behalf of the company **CJ CHEILJEDANG CORPORATION** organized and existing under the laws of Republic of Korea and domiciled at CJ Cheiliedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560, Republic of Korea, by means of the present document I hereby grant this power of attorney for all present and future Industrial Property proceedings, requests and/or registrations to Mrs. Mónica Wolf Wasserman, identified with Citizenship Card No. 51.711.267 and Professional Card No. 46.034 of the Superior Council of the Judicature [*Consejo Superior de la Judicatura*] and/or to Mr. Jesús M. Méndez Bermúdez, identified with Citizenship Card No. 13.491.525 and Professional Card No. 99.678 of the Superior Council of the Judicature [*Consejo Superior de la Judicatura*], members of the firm **WOLF · MENDEZ · ABOGADOS ASOCIADOS**, domiciled at Calle 83 A No. 23-90, Bogota D.C., and e-mail for service of notice: notificaciones@wolfmendez.com

The aforementioned attorneys-in-fact are hereby empowered to file applications, respond to court orders, to file appeals, oppositions, actions for cancellation; to respond to oppositions and actions for cancellation; to represent me in settlement hearings and to make decisions therein; to compromise, desist, replace, cancel, revoke substitutions, to waive the rights of registrations of distinctive signs or new creations and anything else they require to fulfill the present mandate. Likewise, I hereby expressly authorize the Superintendency of Industry and Commerce [*Superintendencia de Industria y Comercio*] to send all communications through the attorneys-in-fact's e-mail.

Sincerely,


Gilberto Martinez Maldonado

Legal representative of **CJ CHEILJEDANG CORPORATION**

The present power of attorney only needs to be completed, signed and sent via e-mail to our offices.

Poder a Abogado en los trámites de Propiedad Industrial

De: **CJ CHEILJEDANG CORPORATION**

A: **Mónica Wolf Wasserman y/o Jesús M. Méndez Bermúdez**

Yo, Gilberto Martinez Maldonado, obrando en nombre y representación de la sociedad **CJ CHEILJEDANG CORPORATION** organizada y existente de conformidad con las leyes de República de Corea y domiciliada en CJ Cheiliedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560, República de Corea, por medio del presente escrito, otorgo poder para todas las actuaciones, solicitudes y/o registros actuales y futuros, relacionados con Propiedad Industrial a la Dra. Mónica Wolf Wasserman, identificada con cédula de ciudadanía No. 51.711.267 y T.P.A. No. 46.034 del C.S. de la J. y/o al Dr. Jesús M. Méndez Bermúdez, identificado con cédula de ciudadanía No. 13.491.525 y T.P.A. No. 99.678 del C. S. de la J., miembros de la firma **WOLF · MENDEZ · ABOGADOS ASOCIADOS**, con domicilio en la Calle 83 A No. 23-90 de Bogotá D.C. y dirección electrónica para notificaciones: notificaciones@wolfmendez.com

Los apoderados quedan facultados para presentar solicitudes, contestar requerimientos, presentar recursos, oposiciones, acciones de cancelación; contestar oposiciones y acciones de cancelación; tomar la representación en audiencias de facilitación y disponer en ellas; conciliar, desistir, sustituir, cancelar, revocar sustituciones, renunciar a los derechos del registro en signos distintivos y en nuevas creaciones, y con todo lo demás que necesiten para cumplir con el presente mandato. Así mismo, autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico de los apoderados.

Atentamente,


Gilberto Martinez Maldonado

Representante legal de **CJ CHEILJEDANG CORPORATION**

El presente poder sólo debe ser diligenciado, firmado y remitido vía e-mail a nuestras oficinas.

Fig. 1

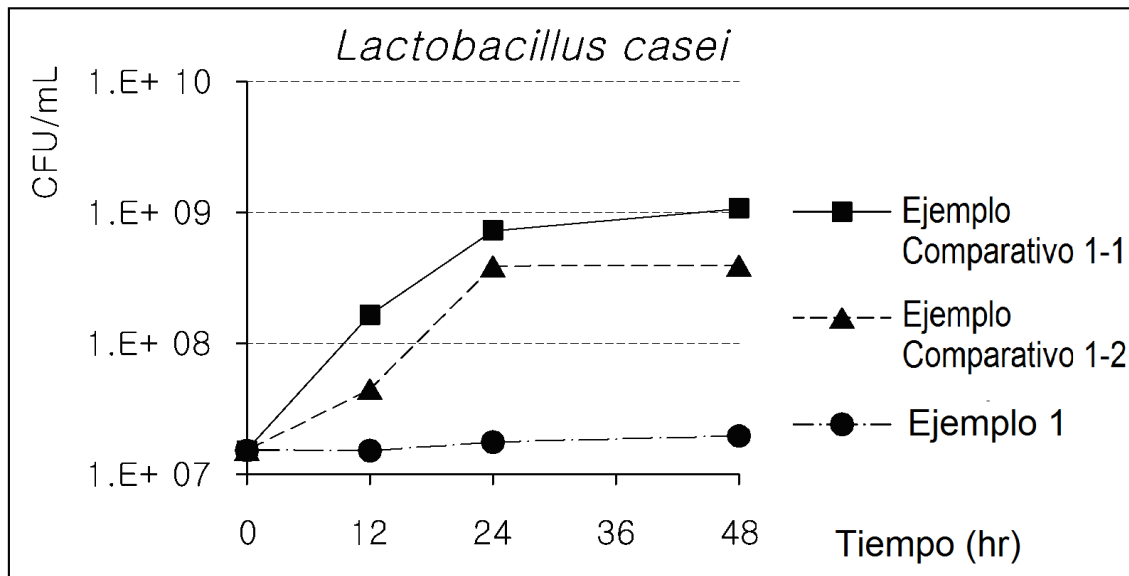


Fig. 2

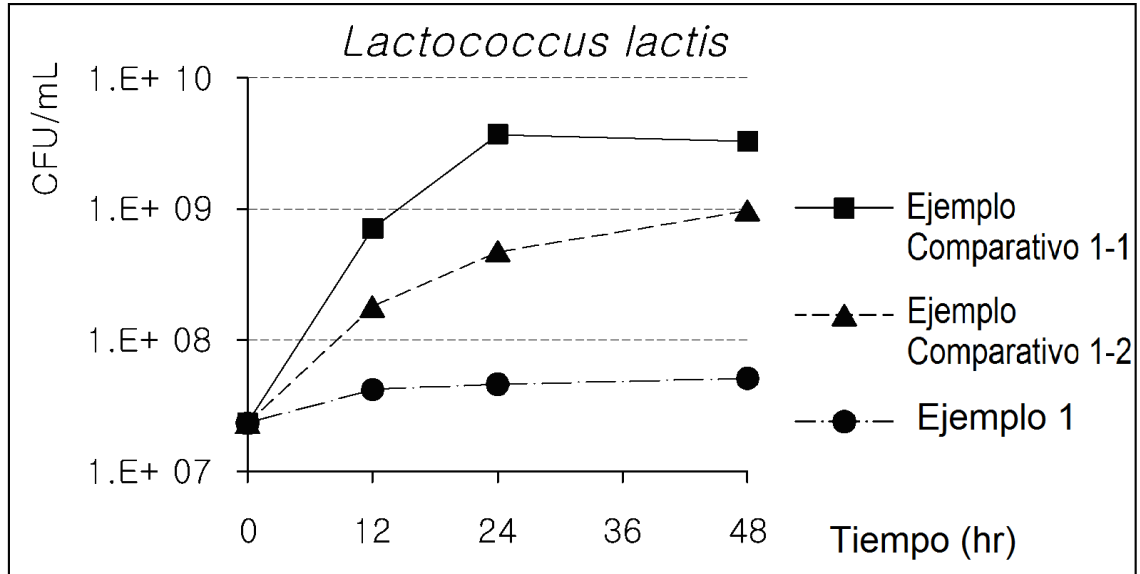


Fig. 3

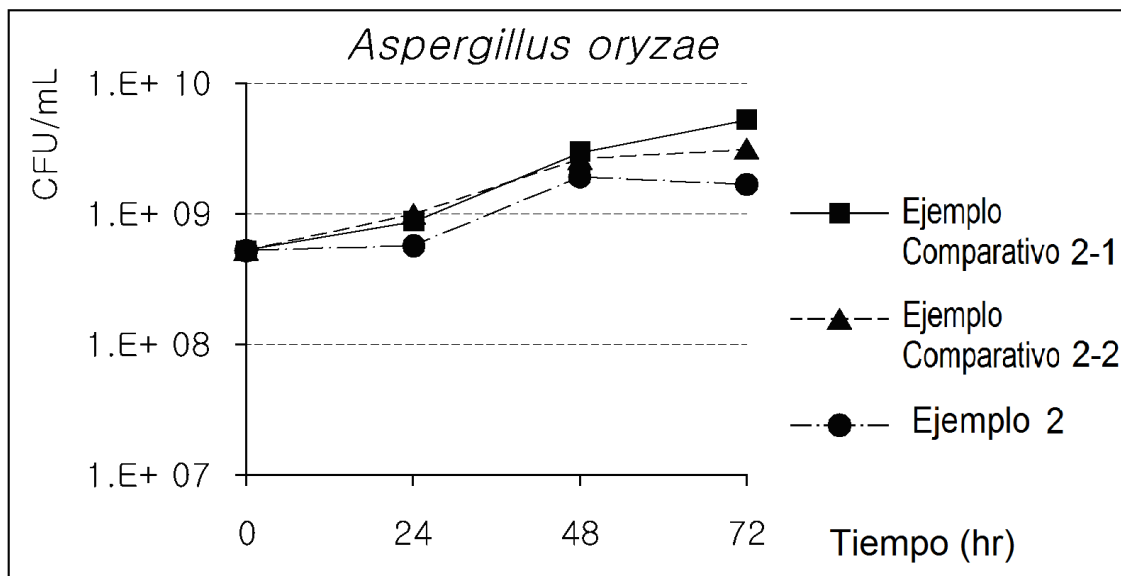


Fig. 4

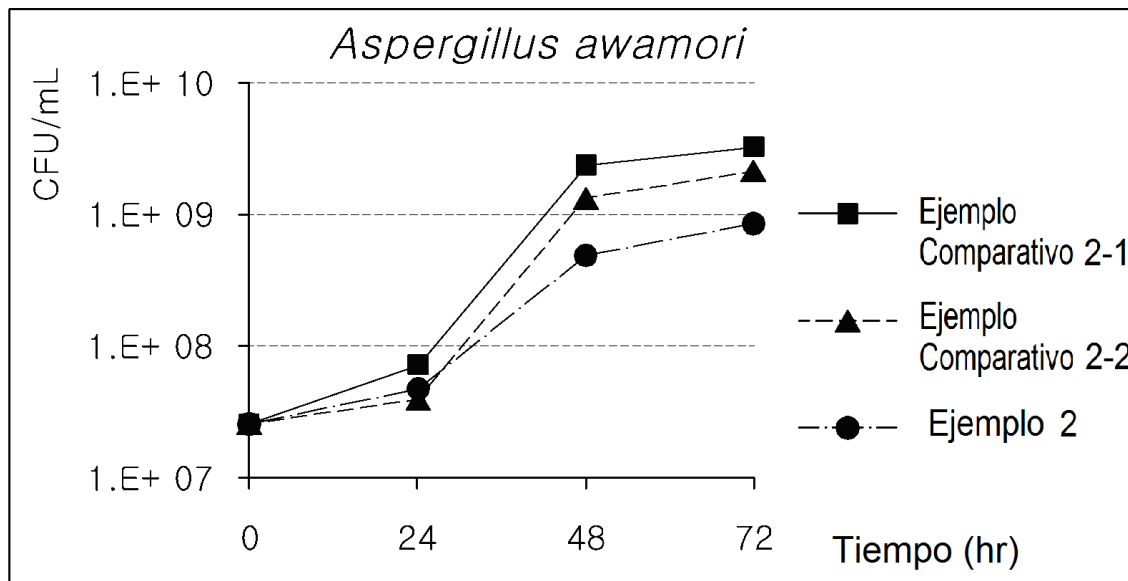


Fig. 5

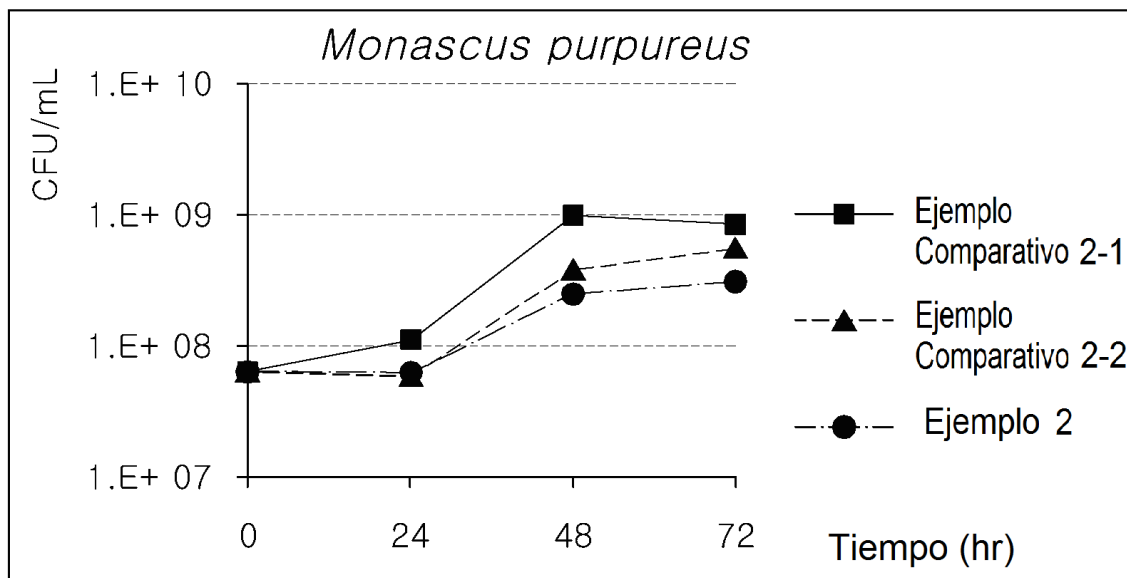


Fig. 6

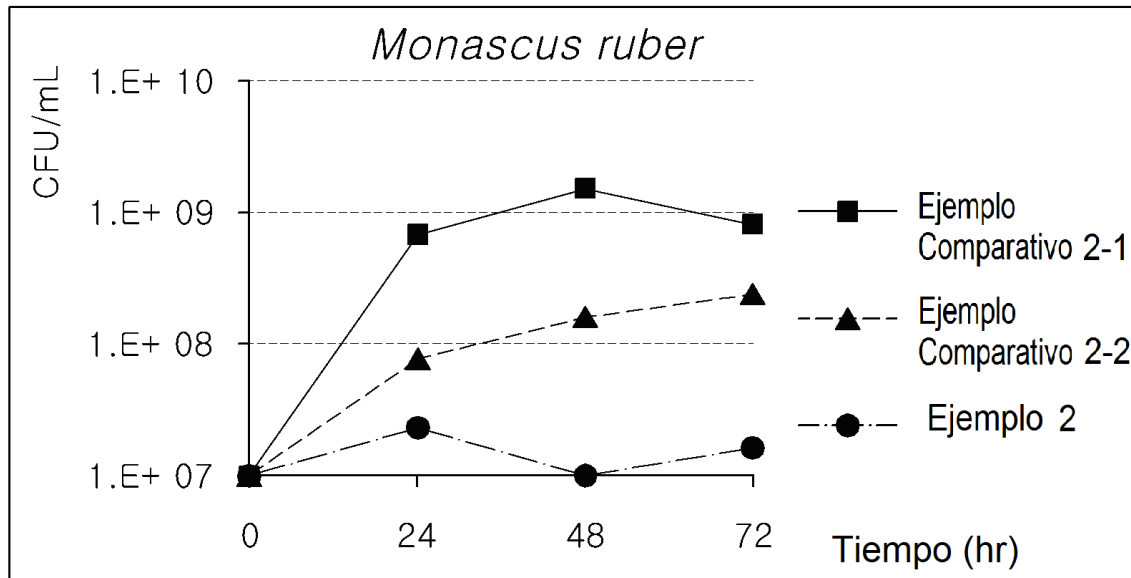


Fig. 7

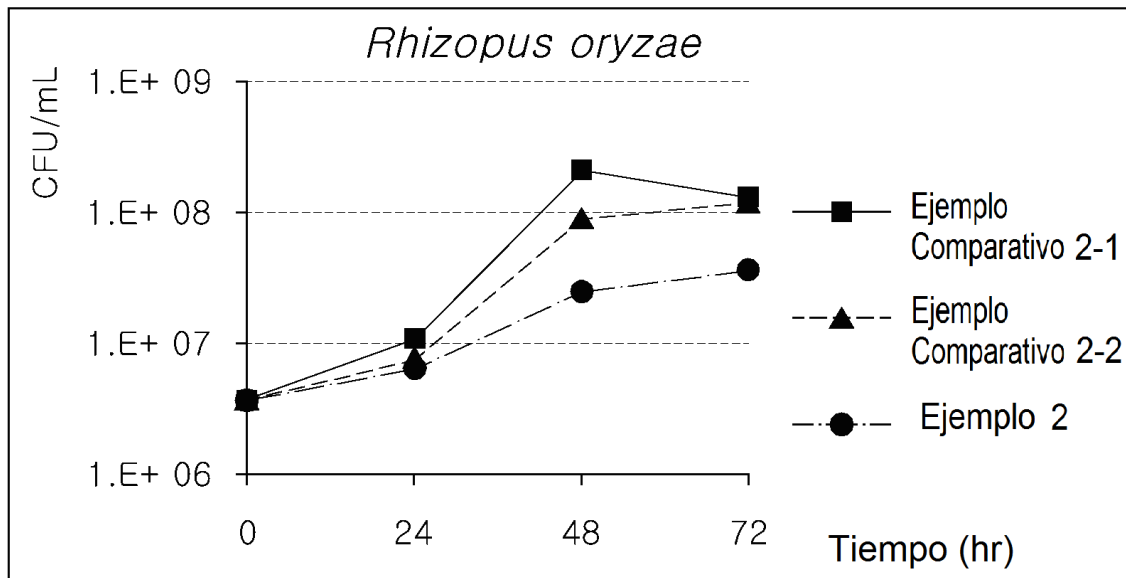


Fig. 8

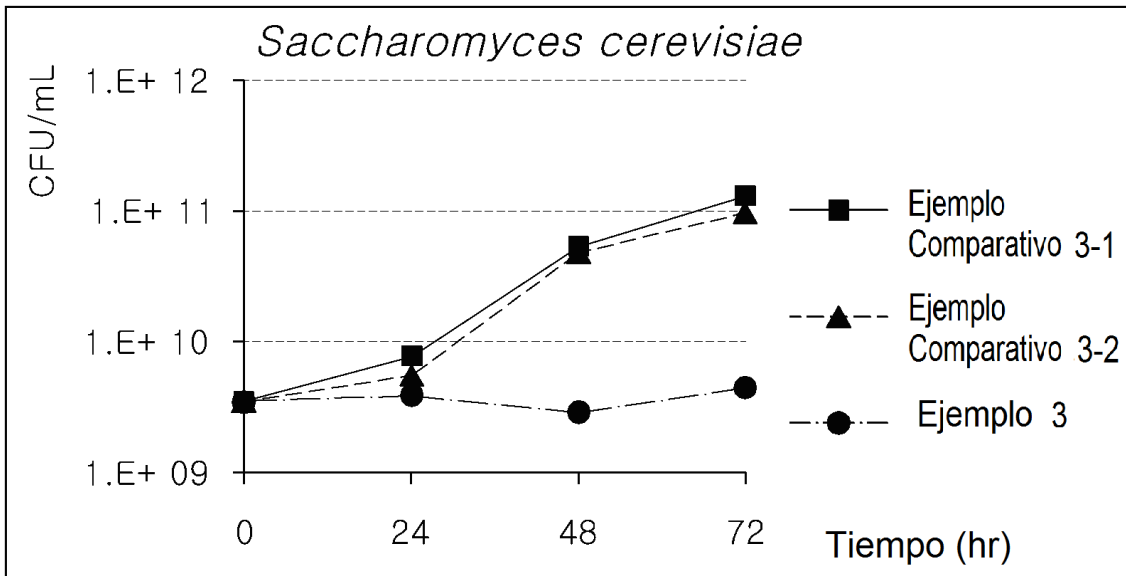
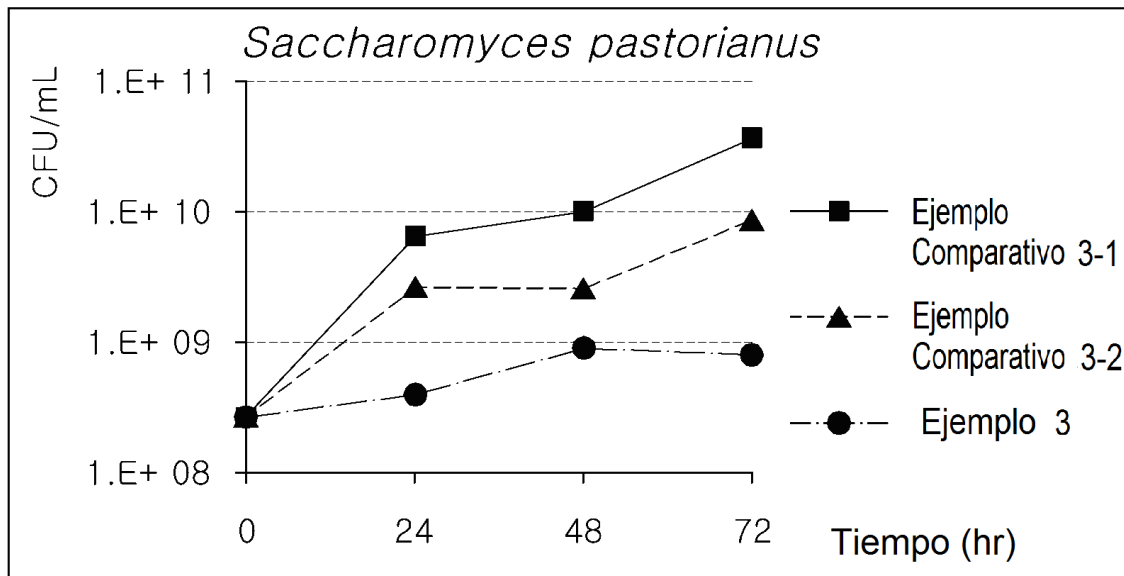


Fig. 9



**INHIBIDOR DEL CRECIMIENTO DE BACTERIAS, HONGOS Y
LEVADURAS QUE CONTIENE ALULOSA**

CAMPO DE LA INVENCION

5

La presente invención se refiere a un inhibidor del crecimiento para bacterias, hongos y levaduras que comprenden sacáridos que contienen alulosa.

10

DESCRIPCION DE LA TECNICA RELACIONADA

15

Los alimentos fermentados son ricos en microorganismos vivos y se someten continuamente a fermentación. A medida que pasa el tiempo, la cantidad de microorganismos en los alimentos fermentados ha cambiado dramáticamente, causando cambios en la calidad tales como los cambios en el contenido de alcohol o el sabor. Así, la distribución y venta de los alimentos fermentados fueron limitados.

20

Particularmente, el makgeolli crudo, que es una bebida fermentada, tiene una vida en anaquel muy corta de 7 a 10 días, y entonces es sustancialmente difícil mantener a la venta por periodos largos. Además, el vino, una bebida alcohólica fermentada, no se mantiene constante en calidad debido a la post-fermentación, y por lo tanto requiere un proceso de esterilización o instalaciones para el

almacenamiento a baja temperatura para evitar que dicho cambio de calidad cause un deterioro en las propiedades sensoriales o aumentos de costos.

Los presentes inventores han hecho esfuerzos para inhibir la
5 post-fermentación de las bebidas alcohólicas fermentadas. Como
resultado, los presentes inventores encontraron que la adición de alulosa
puede inhibir el crecimiento de hongos (por ejemplo, *Aspergillus oryzae*,
Asp. Awamori, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae*),
bacterias (por ejemplo, *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp.
10 *lactis*) y levaduras (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*) usadas para
la fermentación de makgeolli y el crecimiento de levaduras (por ejemplo,
Saccharomyces cerevisiae y *Saccharomyces pastorianus*) usadas para la
fermentación de vino, lo que inhibe la post-fermentación de alimentos
fermentados (por ejemplo, bebidas alcohólicas fermentadas como
15 makgeolli y vino), y así completaron la presente invención.

Literatura relacionada

Documento de patente

Patente Coreana No. 10-1352025

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Problema técnico

Un objeto de la presente invención es proporcionar un
5 inhibidor del crecimiento para un microorganismo que incluya sacáridos
que contengan alulosa.

Otro objeto de la presente solicitud es proporcionar una
bebida alcohólica fermentada que incluya el inhibidor del crecimiento.

Un objeto adicional de la presente solicitud es proporcionar
10 un método para inhibir la post-fermentación de una bebida alcohólica
fermentada, que incluye añadir el inhibidor del crecimiento a la bebida
alcohólica fermentada.

Solución técnica

15 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, un
inhibidor del crecimiento para un microorganismo incluye sacáridos que
contienen alulosa, en donde el microorganismo incluye al menos uno
seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y
levaduras:

20 (i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
como bacterias;

(ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus*
purpureus, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y

(iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

La alulosa usada en el presente documento puede extraerse directamente de productos naturales, o puede sintetizarse química o biológicamente, sin limitarse a ellos. Además, la alulosa se puede proporcionar en forma de cristal o en forma de jarabe que contenga alulosa (es decir, en forma líquida).

La alulosa puede estar presente en una cantidad de 50 partes en peso a 100 partes en peso con respecto a 100 partes en peso de los sacáridos en términos de contenido de sólido seco (DS). Específicamente, la alulosa puede estar presente en una cantidad de 70 partes en peso a 100 partes en peso, 90 partes en peso a 100 partes en peso, 95 partes en peso a 100 partes en peso, 98 partes en peso a 100 partes en peso 98.5 partes en peso a 100 partes en peso, 99 partes en peso a 100 partes en peso, o 99.5 partes en peso a 100 partes en peso, con respecto a 100 partes en peso de sacáridos en términos de contenido de sólidos secos.

Los sacáridos pueden incluir además al menos un edulcorante, aparte de la alulosa. Ejemplos del edulcorante pueden incluir cualquier edulcorante conocido (por ejemplo, monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, alcoholes de azúcar y edulcorantes de alta potencia), sin limitarse a ellos. Ejemplos de monosacáridos pueden incluir arabinosa, xilosa, fructosa, tagatosa, lactosa y galactosa. Los

disacáridos se refieren a un grupo de carbohidratos que consisten en dos unidades de monosacáridos unidas entre sí, y sus ejemplos pueden incluir lactosa, maltosa, trehalosa, turanosa y celobiosa. Los oligosacáridos se refieren a un grupo de carbohidratos que consisten en 3 o más unidades de monosacáridos unidas entre sí, y sus ejemplos pueden incluir fructooligosacáridos, isomaltooligosacáridos, xilooligosacáridos, gentiooligosacáridos, maltooligosacáridos y galactooligosacáridos. Los alcoholes de azúcar se refieren a compuestos obtenidos al reducir un grupo carbonilo en sacáridos, y sus ejemplos pueden incluir eritritol, xilitol, arabitol, manitol, sorbitol, maltitol y lactitol. Los edulcorantes de alta potencia se refieren a edulcorantes que tienen un dulzor diez veces mayor que el de la sacarosa, y sus ejemplos pueden incluir aspartame, acesulfame K, rebaudiósido A y sucralosa, sin limitarse a ellos. En otra modalidad, los sacáridos de acuerdo con la presente invención pueden estar libres de sacarosa, glucosa o una combinación de los mismos.

El inhibidor del crecimiento puede inhibir el crecimiento de *Lactobacillus casei* o *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, de modo que el número de colonias de células individuales medido después del cultivo en medio MRS a 37°C durante 12, 24 ó 48 horas sea del 300% o menos, 200% o menos, 180% o menos, 150% o menos, 130% o menos, 120% o menos, o 100% o menos del número inicial de colonias de células individuales cultivadas durante 0 horas.

El inhibidor del crecimiento puede inhibir el crecimiento de *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* o *Rhizopus oryzae*, de manera tal que el número de colonias de células individuales medido después del cultivo en medio PD a 25°C durante 24, 48 ó 72 horas sea de 3,500% o menos, 2,000% o menos, 500% o menos, 400% o menos, 300% o menos, 200% o menos, 180% o menos, 150% o menos, 130% o menos, 120% o menos, 110% o menos, o 100% o menos del número inicial de colonias de células individuales cultivadas durante 0 horas.

El inhibidor del crecimiento puede inhibir el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomyces pastorianus* de manera tal que el número de colonias de células individuales medido después del cultivo en medio YM a 25°C durante 24, 48 ó 72 horas sea del 400% o menos, 350% o menos, 300% o menos, 200% o menos, 150% o menos, 130% o menos, 120% o menos, 110% o menos, o 100% o menos del número inicial de colonias de células individuales cultivadas durante 0 horas.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, una bebida alcohólica fermentada incluye el inhibidor del crecimiento de acuerdo con la presente invención.

La bebida alcohólica fermentada puede incluir cualquier bebida alcohólica fermentada conocida obtenida inoculando un microorganismo productor de alcohol en una fruta o cereal, seguido de

fermentación en condiciones específicas. Específicamente, la bebida alcohólica fermentada de acuerdo con la presente invención puede ser makgeolli, dongdongju, takju, vino o cerveza, más específicamente makgeolli o vino.

5 La bebida alcohólica fermentada puede ser una bebida alcohólica fermentada por al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y levaduras: (i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* como bacterias; (ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus*
10 *ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y (iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

 La bebida alcohólica fermentada puede ser una bebida alcohólica fermentada que incluya al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en las siguientes bacterias, hongos y
15 levaduras: (i) *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* como bacterias; (ii) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae* como hongos; y (iii) *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* como levaduras.

 La bebida alcohólica fermentada puede incluir además
20 ingredientes alimenticios comúnmente usados en una bebida alcohólica fermentada. Específicamente, la bebida alcohólica fermentada de acuerdo con la presente invención puede incluir además al menos un ingrediente alimenticio seleccionado del grupo que consiste en agua

purificada, oligosacáridos, arroz, almidón (por ejemplo, maltodextrina), gas dióxido de carbono, aspartame, un ácido orgánico (por ejemplo, ácido cítrico) y un extracto vegetal.

En la bebida alcohólica fermentada, el inhibidor del
5 crecimiento, la alulosa, los sacáridos, las bacterias, los hongos y las levaduras son los mismos que los que se describieron anteriormente.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, un método para inhibir la post-fermentación de una bebida alcohólica fermentada incluye añadir el inhibidor del crecimiento de
10 acuerdo con la presente invención a la bebida alcohólica fermentada.

Ahora, las modalidades de la presente invención se describirán con más detalle a través de un método para preparar una bebida alcohólica fermentada. Ejemplos de la bebida alcohólica fermentada incluyen makgeolli y vino representativos como los
15 anteriores. Primero, las modalidades de la presente invención se describirán con más detalle a través de un método para preparar makgeolli que incluye los siguientes pasos:

- (1) preparar un licor madre mediante la fermentación de un material de almidón crudo o cocido usando bacterias, levaduras u hongos;
- 20 (2) triturar el licor madre preparado en el paso (1) agregando un material de almidón, un agente de sacarificación y agua;
- (3) fermentar el producto triturado obtenido en el paso (2), seguido de añejamiento;

(4) eliminar los sólidos de almidón no disueltos tamizando el producto añejado obtenido en el paso (3); y

(5) preparar un producto final mediante la adición de alulosa, sacáridos y agua al producto tamizado obtenido en el paso (4).

5 Como en el método anterior para preparar makgeolli, ya que un método para inhibir la post-fermentación de una bebida alcohólica fermentada distinta de makgeolli, como el vino, de acuerdo con la presente invención es sustancialmente el mismo que un método típico de producción de vino, excepto que los sacáridos y la alulosa de acuerdo con
10 la presente invención se añaden en lugar de los sacáridos o edulcorantes típicos, se omitirá la descripción de los mismos.

 En el método para inhibir la post-fermentación de una bebida alcohólica fermentada, el inhibidor del crecimiento, la alulosa, los sacáridos, las bacterias, los hongos y las levaduras son los mismos que
15 los que se describieron anteriormente.

Efectos adecuados

 De acuerdo con la presente invención, es posible inhibir el crecimiento de microorganismos en una bebida alcohólica fermentada, inhibiendo así la post-fermentación de la bebida alcohólica fermentada.
20 Específicamente, cuando se usa alulosa en lugar de sacáridos, tal como la sacarosa, comúnmente agregada a las bebidas alcohólicas fermentadas como el makgeolli o el vino, la presente invención puede obtener los

efectos para prevenir el deterioro de la calidad involuntario que puede ocurrir durante el almacenamiento o la distribución de bebidas alcohólicas fermentadas y para eliminar la necesidad de un proceso o dispositivo separado para mejorar la estabilidad bajo almacenamiento, simplificando así el proceso de fabricación y reduciendo los costos de fabricación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

10 Las figuras 1 y 2 son gráficas que muestran los valores de CFU dependientes del tiempo para objetivos bacterianos (*Lactobacillus casei* (Fig. 1) y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (Fig. 2)), medidos en muestras de ejemplos comparativos que usan glucosa o sacarosa como sacáridos y muestras de ejemplos que usan alulosa como sacáridos.

15 Las figuras 3 a 7 son gráficas que muestran valores de CFU dependientes del tiempo para objetivos de hongos (*Aspergillus oryzae* (Fig. 3), *Aspergillus awamori* (Fig. 4), *Monascus purpureus* (Fig. 5), *Monascus ruber* (Fig. 6) y *Rhizopus oryzae* (Fig. 7)), medidos en muestras de ejemplos comparativos que usan glucosa o sacarosa como
20 sacáridos y muestras de ejemplos que usan alulosa como sacáridos.

Las figuras 8 y 9 son gráficas que muestran los valores de CFU dependientes del tiempo para objetivos de levadura (*Saccharomyces cerevisiae* (Fig. 8) y *Saccharomyces pastorianus* (Fig. 9)), medidos en

muestras de ejemplos comparativos que usan glucosa o sacarosa como sacáridos y muestras de ejemplos que usan alulosa como sacáridos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

5

De aquí en adelante, la presente invención se describirá con más detalle con referencia a ejemplos. Sin embargo, debe señalarse que estos ejemplos se proporcionan solo a modo de ilustración y no deben interpretarse de ninguna manera como limitantes de la invención.

10 Además, estos ejemplos se proporcionan para una comprensión más completa de la presente invención por un experto en la técnica.

EJEMPLOS

Ejemplo experimental 1: preparación de microorganismos
15 **y medios para la fermentación de bebidas alcohólicas fermentadas**

Con el fin de evaluar la inhibición de la post-fermentación de bebidas alcohólicas fermentadas, se determinó un grado de inhibición del crecimiento de microorganismos comúnmente usados en bebidas alcohólicas fermentadas.

20 Específicamente, cada uno de los microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) obtenidos del Centro de Cultivos de Microorganismos de Corea (KCCM) se subcultivó tres o cuatro veces en un medio de cultivo (Tabla 1) mediante un método típico para mejorar la

actividad. Luego, el microorganismo cultivado se inoculó en un medio de cultivo (Tabla 1), seguido de un sobre-cultivo a una concentración de 10^5 CFU/mL o más, obteniendo así un de licor madre de cepa (Tabla 1).

5 **Tabla 1**

	Artículo	Nombre	KCCM	ATCC	Medio de cultivo
	Bacteria	<i>Lactobacillus casei</i>	12452	393	LACTOBACILOS MRS (MRS)
10		<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	41573	15577	LACTOBACILOS MRS (MRS)
	Hongo	<i>Aspergillus oryzae</i>	12698	1011	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
15		<i>Aspergillus awamori</i>	60247	14331	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
		<i>Monascus purpureus</i>	35473	16365	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
20		<i>Monascus ruber</i>	11845	16378	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
		<i>Rhizopus oryzae</i>	11697	4858	CALDO DE DEXTROSA DE PAPA (PDB)
	Levadura	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11304	9080	CALDO DE MOHO DE

5				LEVADURA (YMB)
	<i>Saccharomyces pastorianus</i>	11523	2345	CALDO DE MOHO DE LEVADURA (YMB)

Ejemplo experimental 2: confirmación del crecimiento de microorganismos dependiendo de la composición de los sacáridos

Con el fin de comparar los grados de inhibición del crecimiento de microorganismos dependiendo del tipo de sacáridos puramente agregados sin un sesgo debido al alcohol y otros aditivos contenidos en una bebida alcohólica fermentada, solo el tipo de sacáridos agregados a un medio de cultivo para cada uno de los microorganismos fue variado e investigado.

Específicamente, como sacáridos de un medio de cultivo adecuado para cada cepa, glucosa cristalina que contiene agua (pureza del 98% en peso o más, CJ Cheiljedang), sacarosa (pureza del 98% en peso o más, CJ Cheiljedang) y alulosa cristalina (pureza: 98% en peso o más, CJ Cheiljedang) se añadieron a cada uno de los medios de cultivo, preparando así un medio de cultivo modificado (Tablas 2 a 4). Luego, se inocularon 100 mL del medio de cultivo modificado preparado con 1 mL del licor madre de cada cepa preparada en el Ejemplo Experimental 1, seguido de la observación de cambios dependientes del tiempo en el

número de células de cada cepa. Es decir, los medios MRS como los indicados en la Tabla 2, los medios PDB como los indicados en la Tabla 3 y los medios YMB como los indicados en la Tabla 4 se inocularon con bacterias (*Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), hongos (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae*) y levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus*), respectivamente, de la misma manera. Luego, cada uno de los medios inoculados con las bacterias se almacenó a 37°C durante 12, 24 y 48 horas para ser usado como una muestra para medir el número de colonias de células individuales, y cada uno de los medios inoculados con los hongos o levaduras se almacenó a 25°C durante 24, 48 y 72 horas para ser usado como una muestra para medir el número de colonias de células individuales.

La medición del número de colonias de células individuales se llevó a cabo mediante un ensayo de microorganismos típico. Específicamente, 1 mL de cada muestra se diluyó gradualmente con 9 mL de solución salina fisiológica esterilizada al 0.9% mediante un método de dilución 10 veces, obteniendo así una muestra diluida. Después de eso, se colocó 1 mL de la muestra diluida en una placa de Petri y se vertieron 25 mL de un medio de cultivo normal con agar agregado a la placa de Petri para que fuera suficientemente mezclado y solidificado, obteniendo así una muestra inoculada. Aquí, como el medio de cultivo normal con

agar agregado, se usaron MRSA, PDA e YMA para las bacterias, los hongos y las levaduras, respectivamente.

Posteriormente, el número medido de colonias de células se multiplicó por un factor de dilución, calculando así el valor de unidades formadoras de colonias (UFC) por mL de muestra.

Tabla 2

Bacteria		
10	Ejemplo Comparativo 1-1	Ejemplo Comparativo 1-2
	Proteasa peptona, 10.0 g	Proteasa peptona, 10.0 g
15	Extracto de res, 8.0 g	Extracto de res, 8.0 g
	Extracto de levadura, 4.0 g	Extracto de levadura, 4.0 g
	Polisorbato (Tween 80), 1.0 g	Polisorbato (Tween 80), 1.0 g
20	Citrato de amonio, 2.0 g	Citrato de amonio, 2.0 g
	Acetato de sodio, 5.0 g	Acetato de sodio, 5.0 g

5	K ₂ HPO ₄ , 2.0 g	K ₂ HPO ₄ , 2.0 g	K ₂ HPO ₄ , 2.0 g
	MgSO ₄ *7H ₂ O, 0.1 g	MgSO ₄ *7H ₂ O, 0.1 g	MgSO ₄ *7H ₂ O, 0.1 g
	MnSO ₄ *4H ₂ O, 0.05 g	MnSO ₄ *4H ₂ O, 0.05 g	MnSO ₄ *4H ₂ O, 0.05 g
	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L
	Glucosa, 20.0 g	Sucrosa, 20.0 g	Alulosa, 20.0 g

Tabla 3

10	Hongo		
	Ejemplo Comparativo 2-1	Ejemplo Comparativo 2-2	Ejemplo 2
	ALMIDÓN DE PAPA, 4.0g	ALMIDÓN DE PAPA, 4.0g	ALMIDÓN DE PAPA, 4.0g
15	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L
	Glucosa, 20.0 g	Sucrosa, 20.0 g	Alulosa, 20.0 g

Tabla 4

Levadura		
Ejemplo Comparativo 3-1	Ejemplo Comparativo 3-2	Ejemplo 3
5 Extracto de levadura, 3.0 g	Extracto de levadura, 3.0 g	Extracto de levadura, 3.0 g
Extracto de malta, 3.0 g	Extracto de malta, 3.0 g	Extracto de malta, 3.0 g
10 Peptona, 5.0 g	Peptona, 5.0 g	Peptona, 5.0 g
Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L	Agua destilada, balance de 1.0 L
Glucosa, 10.0 g	Sucrosa, 10.0 g	Alulosa, 10.0 g

Como resultado, se confirmó que el número de colonias
 15 celulares de las nueve cepas de los Ejemplos 1 a 3 que usan alulosa como
 sacáridos fue significativamente menor que el de las cepas de los
 Ejemplos comparativos. Además, se confirmó que las cepas de los
 Ejemplos comparativos 1-1, 2-1 y 3-1 que usan glucosa como sacáridos
 como en un medio de cultivo típico mostraron un alto grado de
 20 crecimiento de microorganismos y las cepas de los Ejemplos
 comparativos 1-2, 2-2 y 3-2 que usan sacarosa como sacáridos mostraron

un grado de crecimiento de microorganismos no significativamente diferente al de las cepas inoculadas usando glucosa como sacáridos.

Específicamente, *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, como bacterias, en un medio de cultivo que usa glucosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 1-1) y un medio de cultivo que usa sacarosa como sacáridos (Ejemplo Comparativo 1-2) aumentaron en el número de células de 40.6 a 137 veces. A la inversa, las bacterias en un medio de cultivo que usaba alulosa como sacáridos aumentaron en el número de células solo de 1.3 a 2.2 veces. Por lo tanto, se observó sustancialmente ningún crecimiento de cepas (Figs. 1 y 2).

Además, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber* y *Rhizopus oryzae*, como hongos, aumentaron en el número de células de 9.8 a 148.5 veces en un medio de cultivo usando glucosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 2-1) y 5.9 a 81.1 veces en un medio de cultivo usando sacarosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 2-2), respectivamente. A la inversa, los hongos aumentaron en número de células solo de 1.6 a 9.8 veces en un medio de cultivo usando alulosa como sacáridos (Ejemplo 2). Por lo tanto, se observó una inhibición estadísticamente significativa del crecimiento de microorganismos (Figs. 3 a 7).

Finalmente, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus*, como levaduras, en un medio de cultivo que usa glucosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 3-1) y un medio de cultivo que usa

sacarosa como sacáridos (Ejemplo comparativo 3-2) aumentaron en número de células de 27.4 a 134.8 veces. Por el contrario, las levaduras en un medio de cultivo que usan alulosa como sacáridos aumentaron en el número de células solo de 1.3 a 3 veces. Por lo tanto, se observó sustancialmente ningún crecimiento de cepas (Figs. 8 y 9).

Para cada una de las cepas, el número de colonias individuales se midió después del cultivo durante 0, 12, 24, 48 y 72 horas en cada uno de los medios de cultivo. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

10

Tabla 5

15

20

Cepa	Clasificación dependiente de medio	0 horas	12 horas	24 horas	48 horas	Medio de cultivo (sacáridos)
<i>Lactobacillus casei</i>	Ejemplo Comparativo 1-1	1.5 X 10 ⁷	1.7 X 10 ⁸	7.3 X 10 ⁸	1.1 X 10 ⁹	MRS (glucosa)
	Ejemplo Comparativo 1-2	1.5 X 10 ⁷	4.5 X 10 ⁷	3.9 X 10 ⁸	4.0 X 10 ⁸	MRS (sucrosa)
	Ejemplo 1	1.5 X 10 ⁷	1.5 X 10 ⁷	1.8 X 10 ⁷	2.0 X 10 ⁷	MRS (alulosa)
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	Ejemplo Comparativo 1-1	2.4 X 10 ⁷	7.0 X 10 ⁸	3.6 X 10 ⁹	3.3 X 10 ⁹	MRS (glucosa)
	Ejemplo	2.4 X	1.8 X	4.8 X 10 ⁸	9.7 X	MRS

5		Comparativo 1-2	10^7	10^8		10^8	(sucrosa)
		Ejemplo 1	2.4×10^7	4.2×10^7	4.6×10^7	5.2×10^7	MRS (alulosa)
	Cepa	Clasificación dependiente de medio	0 horas	12 horas	24 horas	48 horas	medio de cultivo
	<i>Aspergillus oryzae</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	5.3×10^8	8.7×10^8	3.0×10^9	5.2×10^9	PDB (glucosa)
10		Ejemplo Comparativo 2-2	5.3×10^8	1.0×10^9	2.7×10^9	3.1×10^9	PDB (sucrosa)
		Ejemplo 2	5.3×10^8	5.7×10^8	1.9×10^9	1.7×10^9	PDB (alulosa)
15	<i>Aspergillus awamori</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	2.6×10^7	7.2×10^7	2.4×10^9	3.3×10^9	PDB (glucosa)
		Ejemplo Comparativo 2-2	2.6×10^7	4.0×10^7	1.3×10^9	2.1×10^9	PDB (sucrosa)
		Ejemplo 2	2.6×10^7	4.8×10^7	4.9×10^8	8.6×10^8	PDB (alulosa)
	<i>Monascus purpureus</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	6.4×10^7	1.1×10^8	9.9×10^8	8.6×10^8	PDB (glucosa)
20		Ejemplo Comparativo 2-2	6.4×10^7	5.9×10^7	3.8×10^8	5.6×10^8	PDB (sucrosa)

5		Ejemplo 2	6.4 X 10 ⁷	6.3 X 10 ⁷	2.5 X 10 ⁸	3.1 X 10 ⁸	PDB (alulosa)
	<i>Monascus ruber</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	1.0 X 10 ⁷	6.8 X 10 ⁸	1.5 X 10 ⁹	8.0 X 10 ⁸	PDB (glucosa)
		Ejemplo Comparativo 2-2	1.0 X 10 ⁷	7.7 X 10 ⁷	1.6 X 10 ⁸	2.4 X 10 ⁸	PDB (sucrosa)
		Ejemplo 2	1.0 X 10 ⁷	2.3 X 10 ⁷	1.0 X 10 ⁷	1.6 X 10 ⁷	PDB (alulosa)
	<i>Rhizopus oryzae</i>	Ejemplo Comparativo 2-1	3.7 X 10 ⁶	1.1 X 10 ⁷	2.1 X 10 ⁸	1.3 X 10 ⁸	PDB (glucosa)
10		Ejemplo Comparativo 2-2	3.7 X 10 ⁶	7.4 X 10 ⁶	8.9 X 10 ⁷	1.2 X 10 ⁸	PDB (sucrosa)
		Ejemplo 2	3.7 X 10 ⁶	6.4 X 10 ⁶	2.5 X 10 ⁷	3.6 X 10 ⁷	PDB (alulosa)
	<i>Saccharo myces cerevisiae</i>	Ejemplo Comparativo 3-1	3.5 X 10 ⁹	7.7 X 10 ⁹	5.3 X 10 ¹⁰	1.3 X 10 ¹¹	YMB (glucosa)
		Ejemplo Comparativo 3-2	3.5 X 10 ⁹	5.6 X 10 ⁹	4.8 X 10 ¹⁰	9.7 X 10 ¹⁰	YMB (sucrosa)
		Ejemplo 3	3.5 X 10 ⁹	3.9 X 10 ⁹	2.9 X 10 ⁹	4.5 X 10 ⁹	YMB (alulosa)
20	<i>Saccharo myces pastorian</i>	Ejemplo Comparativo 3-1	2.7 X 10 ⁸	6.4 X 10 ⁹	1.0 X 10 ¹⁰	3.6 X 10 ¹⁰	YMB (glucosa)

5

<i>us</i>						
	Ejemplo Comparativo 3-2	2.7 X 10 ⁸	2.6 X 10 ⁹	2.6 X 10 ⁹	8.6 X 10 ⁹	YMB (sucrosa)
	Ejemplo 3	2.7 X 10 ⁸	4.0 X 10 ⁸	8.9 X 10 ⁸	8.0 X 10 ⁸	YMB (alulosa)

10 En conclusión, se puede ver que, cuando se usa alulosa en lugar de la sacarosa comúnmente usada como edulcorante agregado a bebidas alcohólicas fermentadas como el makgeolli, es posible reducir la post-fermentación causada por el crecimiento de microorganismos que puede ocurrir durante la producción o distribución de las bebidas alcohólicas fermentadas.

15 Aunque algunos ejemplos de modalidad se han descrito en el presente documento, los expertos en la materia deberían entender que estas modalidades se ofrecen solo a modo de ilustración, y que se pueden hacer diversas modificaciones, variaciones y alteraciones sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. Por lo tanto, las modalidades y los dibujos adjuntos no deben interpretarse como limitantes del espíritu técnico de la presente invención, sino que deben interpretarse como ilustrativos del espíritu técnico de la presente invención. El alcance de la invención debe interpretarse de acuerdo con las siguientes reivindicaciones adjuntas que cubre todas las modificaciones o variaciones derivadas de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

20