(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0000970
(43) 공개일자 2019년01월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/16 (2006.01) *C12C 12/00* (2006.01)
C12R 1/865 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 1/16 (2013.01)
C12C 12/006 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0079971
(22) 출원일자 2017년06월23일
심사청구일자 2017년06월23일

(71) 출원인
대한민국(환경부 국립생물자원관장)
인천 서구 환경로 42, 종합환경연구단지 국립생물자원관 (경서동)
중앙대학교 산학협력단
서울특별시 동작구 흑석로 84 (흑석동)
(뒷면에 계속)
(72) 발명자
허문석
인천광역시 서구 환경로 42(경서동 종합환경연구단지) 국립생물자원관 미생물자원과
김창무
경기도 고양시 일산서구 대화1로 61(대화동, 대화마을) 502동 101호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안창우

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **향기성분 고생산성 사카로마이세스 세레비제 신균주 및 이를 이용한 맥주의 제조 방법**

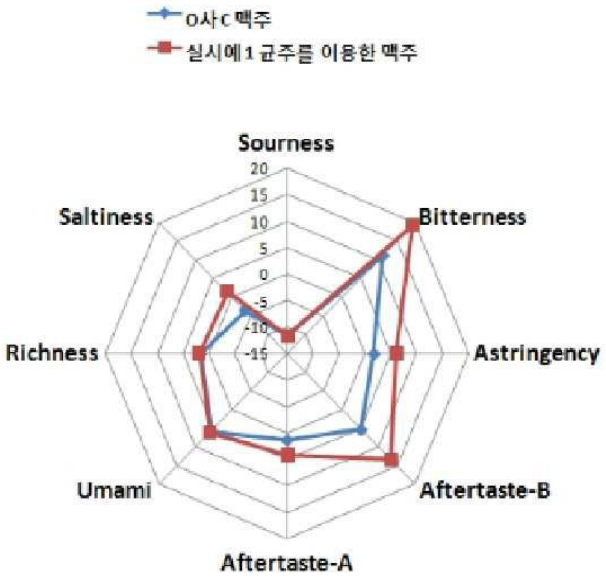
(57) 요 약

본 발명은 향기성분 고생산성 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868에 관한 것이다.

본 발명의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



93278P)로 발효하여 주조된 맥주는 미각센서를 통한 관능 테스트 결과 시중에서 판매되는 상업용 맥주에 비해 모든 항목에서 높은 관능미를 보유하고 있는 것을 확인할 수 있었고, 동 균주에 대한 ITS 서열분석 결과와 MLST 분석 결과를 토대로 본 발명의 NIBRFGC000498868 효모 균주가 신균주임을 확인할 수 있었다. 또한, 동 균주는 발효 과정에서 바나나, 사과, 포도 등의 과일향, 카라멜향, 그리고, 아니스 및 정향의 시원한 향 등을 내는 이소아밀 알코올, 이소아밀아세테이트 등의 화합물을 대량 생산하여 동 균주를 이용하면 관능성이 개선된 크래프트 맥주를 제조할 수 있다.

(52) CPC특허분류
C12R 1/865 (2013.01)

(71) 출원인
숙명여자대학교산학협력단
서울특별시 용산구 청파로47길 100 (청파동2가, 숙명여자대학교)
한경대학교 산학협력단
경기도 안성시 중앙로 327(석정동)
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자
김계원
서울특별시 서초구 잠원로14길 23 롯데캐슬아파트 207-501
심재용
서울특별시 강남구 언주로30길 21 아카데미 스위트 a동1908호
박천석
경기도 남양주시 와부읍 덕소로116번길 49 106동 1303호 (덕소리,현대홈타운아파트)
이상진
서울 성동구 고산자로 160 (응봉동) 대림강변아파트 108동 1001호
어중혁
서울특별시 강남구 삼성로 151 3동 703호 (대치동,선경아파트)

명 세 서

청구범위

청구항 1

향기성분 고생산성 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 균주는 서열번호 1의 ITS 서열을 갖는 것을 특징으로 하는 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P).

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 향기성분은 이소아밀알코올(3-methyl-1-butanol), 이소아밀아세테이트(1-butanol-3-methyl acetate), 헥사노익산에틸에스터(Hexanoic acid ethyl ester), 벤젠에탄올(benzene ethanol), 2,3-디하이드로-3,5-디하이드록시-6-메틸-4수소-파이-4-론(2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one), 옥타노익산(Octanoic acid), 옥타노익산 에틸에스터(Octanoic acid, ethyl ester), 9-데카노익산(9-decenoic acid), 아세트산 펜에틸에스터(Acetic acid, phenethyl ester), 2-메톡시-4-비닐페놀(2-Methoxy-4-vinylphenol), 및 펜타노익산-2,2,4-트리메틸-3-카복시이소프로필-이소부틸에스터(Pentanoic acid-2,2,4-trimethyl-3- carboxy isopropyl, isobutyl ester)인 것을 특징으로 하는 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P).

청구항 4

제1항의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)을 이용하여 맥즙을 에탄올 발효하는 것을 포함하는, 맥주의 제조방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 에탄올 발효는 13℃ 내지 15℃의 온도에서 7 내지 14일 동안 수행되는 것을 특징으로 하는 맥주의 제조방법.

청구항 6

제4항 또는 제5항의 제조방법으로 제조된 향기성분이 강화된 맥주.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 향기성분 고생산성 사카로마이세스 세레비제 신균주 및 이를 이용한 맥주의 제조 방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 이소아밀알코올(3-methyl-1-butanol), 이소아밀아세테이트(1-butanol-3-methyl acetate), 헥사노익산에틸에스터(Hexanoic acid ethyl ester), 벤젠에탄올(benzene ethanol), 2,3-디하이드로-3,5-디하이드록시-6-메틸-4수소-파이-4-론(2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one) 등의 향기성분을 고농도로 생산하는 사카로마이세스 세레비제(*Saccharomyces cerevisiae*) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 맥주는 인류가 유목생활에서 정착생활로 전환해 농경생활을 하면서부터 만들어진 음료로, 기원전 4000년경 티그리스 강과 유프라테스 강 사이에 위치한 메소포타미아의 수메르인들에 의해 발명된 음료이다.

[0004] 맥주는 알코올 함량 약 4% 정도인 황금색의 투명한 액체로 탄산가스를 함유하고 있으며, 백색 크림형의 거품을 나타내는 특징이 있다. 이러한 맥주는 세계 여러 나라의 각 지방마다 그 맛이 다르며, 알코올을 함유한 대중음료로 자리 잡고 있다. 맥주는 일반적으로 분쇄, 담금, 맥아즙의 여과, 자비 및 홉 첨가, 냉각 및 효모 첨가, 발효, 숙성, 제품화의 8단계를 거쳐 만들어지며 맥아, 호프, 효모, 물 이 네 가지를 주원료로 한다.

[0006] 서양에서는 19세기 산업혁명 시기에 비약적인 발전을 했는데, 영국의 제임스 와트(James Watt)가 만든 증기기관은 물의 이송과 맥아의 분쇄, 맥즙의 교반 등에 동력을 사용할 수 있게 하며 맥주의 대량 생산을 가능하게 했다. 또한 독일의 카를 폰 린데(Carl von Linde)는 냉동기를 발명해 겨울에만 만들 수 있었던 하면발효 맥주를 계절에 관계없이 양조할 수 있도록 했다. 프랑스의 루이 파스퇴르(Louis Pasteur)는 술이 효모의 작용에 의해 생성된다는 사실을 발견하고, 열처리 살균법을 발명하였고, 덴마크의 에밀 한센(Emil Hansen)은 파스퇴르의 이론을 응용해 효모의 순수배양법을 개발하면서 맥주의 품질을 높였다.

[0007] 이 후, 맥주의 발효에 직접적으로 영향을 미치는 효모를 개량하고자 하는 연구가 지속적으로 이루어져 왔다. 맛과 향이 우수한 맥주효모 균주를 얻기 위해 지금까지는 우수 균주를 스크리닝하는 방법들이 이용되어 왔고, 이와 관련하여 특허공개 제10-1998-049303호 “새로운 고향기 맥주효모균주 사카로마이세스 세레비제 CZ15와 이를 이용한 맥주의 제조방법”, 특허등록 제10-1050125호 “고온 내성을 갖는 효모 변이체” 등의 특허가 개발된 바 있다.

[0008] 그러나, 국내의 경우 하이트진로(주)와 OB맥주(주)의 2개 회사가 맥주 시장을 양분하고 있어 양사가 아닌 제3자가 우수한 맥주 효모 균주를 개발한다고 하더라도 이를 활용하기 어려운 한계가 존재하여 왔고, 따라서 외국에 비해 우수한 맥주 효모를 개발하고자 하는 시도가 상대적으로 저조한 실정이었다.

[0010] 최근 소규모 맥주 면허제도(Micro Brewery)가 도입되면서 개인이나 소규모 양조장이 자체 개발한 제조법에 따라 만든 크래프트 맥주(craft beer)가 출시되어 인기를 끌고 있다. 크래프트 맥주는 필스너 맥아(Pilsner Malt), 둔켈 맥아(Dunkel Malt), 카라멜 맥아(Caramel Malt), 휘트 맥아(Wheat Malt) 및 로스티드 맥아(Roasted Malt) 등 여러 가지 종류의 맥아원료를 사용하고 당화공정, 발효공정, 숙성공정을 거쳐 맥주를 제조하게 된다.

[0011] 맥주의 맛과 향에는 많은 향기성분들이 관여하지만 직접적으로 영향을 미치는 것으로는 아세트알데히드(Aectaldehyde), 다이아세틸(Diaceyl), 초산에틸(Ethyl acetate), 이소초산아밀(Isoamyl acetate), 이소아밀알코올(Isoamyl alcohol), 페닐에틸알코올(Phenylethyl alcohol), 초산페닐에틸(Phenylethyl acetate), 카프로산에틸(Ethyl caproate) 등이 있는데, 크래프트 맥주에는 이러한 향기 성분이 다량 포함되어 있고, 진하고 깊은 맛과 향을 내는 특징이 있어 크래프트 맥주의 수요가 점진적으로 증가하고 있는 추세이다.

[0012] 그러나, 국내에서 크래프트 맥주를 제조하는데 사용되는 맥주 효모는 대부분 외국에서 수입하는 실정이며, 비싼 가격과 함께 구입이 번거로운 단점이 있어 이를 대체할 수 있는 국산 맥주 효모 개발이 절실한 실정이다.

[0014] 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 누룩에서 분리된 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)이 향기성분을 고농도로 생산하고, 관능성이 뛰어난 맥주를 제조할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 따라서, 본 발명의 주된 목적은 향기성분을 고농도로 생산하는 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)을 제공하는 데 있다.

[0017] 본 발명의 다른 목적은 상기 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)을 이용한 맥주의 제조방법과 이에 따라 제조된 맥주를 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0019] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 향기성분 고생산성 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)을 제공한다.

[0021] 본 발명자들은 크래프트 맥주에 사용되는 수입산 맥주효모를 대체하는 국산 효모균주를 개발하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 누룩에서 분리된 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)이 시중에서 판매되는 상용 맥주 효모보다 관능성에서 뛰어난 특성을 갖는 맥주를 제조할 수 있음을 확인하였고, 상기 신균주가 향기성분을 고농도로 생산하고, 이를 이용하여 관능성이 뛰어난 맥주를 제조할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0023] 본 발명의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)에서, 상기 균주는 서열번호 1의 ITS 서열을 갖는 것을 특징으로 한다. 본 발명자들은 NIBRFGC000498868 균주의 genomic DNA를 추출하고, ITS 1과 ITS 4 프라이머들 이용하여 증폭한 결과 서열번호 1의 ITS 서열을 확인하였고, BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) 프로그램을 이용하여 유전자의 상동성을 근거로 하여 상기 NIBRFGC000498868 균주의 ITS 서열을 비교분석하였고, NIBRFGC000498868 균주가 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 균주임을 계통분석을 통해 확인하였다. 이 후 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)의 MLST 분석을 통해 본 발명의 NIBRFGC000498868 효모 균주와 상업적으로 판매하는 상용균주들의 유전형질에 큰 차이가 있음을 확인할 수 있었고, ITS 서열분석 결과와 MLST(Multilocus sequence typing) 분석 결과를 토대로 본 발명의 NIBRFGC000498868 효모 균주가 신균주임을 확인할 수 있었다.

[0024] 또한, 본 발명의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)은 이소아밀알코올(3-methyl-1-butanol), 이소아밀아세테이트(1-butanol-3-methyl acetate), 헥사노익산에틸에스터(Hexanoic acid ethyl ester), 벤젠에탄올(benzene ethanol), 2,3-디하이드로-3,5-디하이드록시-6-메틸-4수소-파이-4-론(2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one), 옥타노익산(Octanoic acid), 옥타노익산 에틸에스터(Octanoic acid, ethyl ester), 9-데카노익산(9-decenoic acid), 아세트산 펜에틸에스터(Acetic acid, phenethyl ester), 2-메톡시-4-비닐페놀(2-Methoxy-4-vinylphenol), 및 펜타노익산-2,2,4-트리메틸-3-카복시이소프로필-이소부틸에스터(Pentanoic acid-2,2,4-trimethyl-3- carboxy isopropyl, isobutyl ester) 등의 향기성분을 고농도로 생산하는 것을 특징으로 한다. 크래프트 맥주를 제조하는데 가장 많이 사용되고 있는 상용효모 E로 제조된 비교예의 맥주와는 달리, 본 발명의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)을 이용한 맥주는 이소아밀알코올, 이소아밀아세테이트, 9-데카노익산. 및 펜타노익산,2,2,4-트리메틸-3-카복시이소프로필,이소부틸에스터가 다량 검출되었는데, 이들 성분은 과실에 많이 포함되어 있는 에스테르 향기 성분이다.

[0025] 또한, 사과 또는 아니스 향을 내는 헥사노익산에틸에스터 화합물은 비교예의 맥주에 비해 22% 높은 것으로 측정되었고, 카라멜 향을 내고 항산화 효과가 있는 것으로 알려진 2,3-디하이드로-3,5-디하이드록시-6-메틸-4수소-파이-4-론 화합물은 859% 높은 것으로 측정되었으며, 장미향을 내는 향미성분으로 잘 알려진 벤젠에탄올 화합물은 49.5% 높은 것으로 측정되었고, 고급 위스키의 퓨젤성분으로 알려진 옥타노익산 및 옥타노익산 에틸에스터 성분은 각각 315% 및 32% 높은 것으로 측정되었으며, 바나나 또는 클로브 향을 내고 홉 향을 살려주는 중요한 향미성분으로 알려진 2메톡시4비닐페놀 화합물이 121% 높은 것으로 측정되는 등, 대표적인 수입산 맥주 효모로 주조한 맥주에 비해 실시예의 맥주에서 향미성분들의 함량이 매우 높은 것으로 측정되었다.

[0026] 본 발명의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)은 발효 과정에서 바나나, 사과, 포도 등의 과일향, 카라멜향, 그리고, 아니스 및 정향의 시원한 향 등을 내는 이소아밀알코올, 이소아밀아세테이트 등의 화합물을 대량 생산함을 정량적으로 확인하였고, 동 균주를 이용하여 향미 기여 성분인 에스테르 성분이 강화되어 관능성이 개선된 맥주를 제조할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0028] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주

NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)을 이용하여 맥즙을 에탄올 발효하는 것을 포함하는, 맥주의 제조방법을 제공한다.

[0029] 맥주제조는 먼저 보리를 싹틔워 맥아를 만든 후 맥아와 녹말질 부원료로 맥아즙을 만들고 홉을 첨가해 끓인 후 냉각한다. 이 냉각된 맥아즙에 맥주효모를 넣어 에탄올 발효과정을 거치고, 일정기간 저장 및 숙성한 후 여과하여 바로 제품화하면 생맥주가 되며, 병이나 캔에 넣어 저온살균 처리하면 오래 보관할 수 있는 맥주가 되는데, 이러한 과정은 당업자들에게 널리 알려져 있다. 상기와 같이 맥주 제조 과정에서 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)를 이용하여 에탄올 발효를 진행하게 되면, 향기성분이 고농도로 생산되게 되며, 관능성이 개선된 맥주를 제조할 수 있다.

[0030] 본 발명의 맥주 제조방법에서, 상기 에탄올 발효 과정은 13 내지 15℃의 온도에서 7 내지 14일 동안 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 상기 맥주의 제조방법에 의해 제조된 향시성분이 강화된 맥주를 제공한다.

[0032] 상기 맥주의 제조방법을 이용하여 제조된 맥주와 관련된 기타 사항은 상술한 상기 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P) 및 이를 이용한 맥주의 제조방법에 상세히 기술되어 있으므로 이에 대한 설명은 생략한다.

발명의 효과

[0034] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명은 향기성분 고생산성 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868을 제공한다.

[0035] 본 발명의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)로 발효하여 주조된 맥주는 미각센서를 통한 관능 테스트 결과 시중에서 판매되는 상업용 맥주에 비해 높은 관능미를 보유한다. 또한, 동 균주는 발효 과정에서 바나나, 사과, 포도 등의 과일향, 카라멜향, 그리고, 아니스 및 정향의 시원한 향 등을 내는 이소아밀알코올, 이소아밀아세테이트 등의 화합물을 대량 생산하여 동 균주를 이용하면 관능성이 개선된 크래프트 맥주를 제조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0037] 도 1은 본 발명의 NIBRFGC000498868 균주를 이용하여 제조된 맥주와 O사의 C 맥주를 비교하여 맛 분석기를 이용하여 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 산업용 맥주 발효균주 A, 산업용 맥주 발효균주 B, 실험용 비교 균주 S288C, 및 본 발명의 균주의 계통수를 도시한 그림이다.

도 3은 최적 배양 조건에서 균체농도를 2시간 간격으로 측정한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

[0040] **실시예 1. 효모 균주의 분리 및 동정**

[0041] **1-1. 효모 균주의 분리**

[0042] 누룩 10g을 분쇄하여 0.1% 펩톤(peptone) 90 ml에 현탁한 후, 단계적으로 10^{-2} 배에서 10^{-7} 배로 희석하였다. 희석한 현탁액은 분리용 평판 배지에 100㎕씩 도말하여 25℃에 배양하였다. 이 때 사용되는 분리 배지는 디클로란-글리세롤 아가(Dichloran-glycerol agar)(DG18: Peptone 0.5%, Glucose 1%, KH_2PO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, 0.2% Dichloran 1.0ml, Chloramphenicol 0.01%, 및 Agar 1.5%) 배지와 디클로란 로즈 벵갈 클로로암페니콜 아가(Dichloran rose bengal chloramphenicol agar)(DRBC: (DRBC: Peptone 0.5%, Glucose 1%, KH_2PO_4

0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, 0.2% Dichloran 1.0 ml, Rose bengal 0.0025%, Chloramphenicol 0.01%, 및 Agar 1.5%) 배지를 사용하였다. 배지에서 자라 효모의 성상을 나타내는 균주를 분리한 후에 이를 PDA(Potato dextrose agar: Potato starch 0.4%, Dextrose 2%, Agar 1.5%) 배지에 접종하고, 효모로 확인된 균주를 보존하였다.

[0044] **1-2. 효모 균주를 이용한 맥주의 제조**

[0045] 맥아 5.5kg을 맥아 껍질층이 완전히 가루로 되지 않고 껍질이 약간 남아 있을 정도로 분쇄하였다. 분쇄된 맥아에 30L의 물에 현탁시킨 다음, 63℃~68℃ 온도에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 맥아 현탁액을 여과하여 껍질층을 제거한 다음 추출된 맥즙을 수득하였다. 수득한 여과한 맥즙을 100℃로 1시간 자비한 후 맥즙의 자비 중 홉 50g을 자비 종료 10분전 추가로 첨가하여 자비를 실시하였다.

[0046] 자비가 끝난 맥즙은 월풀로 옮긴 후 월풀에서 홉 찌꺼기나 단백질-폴리페놀의 침전물질 등을 여과하여 제거하였다.

[0047] 상기 여과과정이 끝난 맥즙을 발효탱크로 이동시킨 실시예 1-1에서 분리된 효모를 10^6 CFU/ml가 되도록 접종한 후, 13℃ 내지 15℃ 사이에서 10일 동안 발효하였다. 알코올 발효가 끝난 맥즙은 1℃에서 48시간동안 정치보관하여 여과한 다음 상등액 부분을 취하여 탄산주입기로 탄산을 포화하여 맥주를 제조하였다.

[0049] **실시예 2. 미각센서를 이용한 관능 테스트**

[0050] 상기 실시예에서 분리된 효모들 중 가장 우수한 효모를 선발하기 위하여 상기 실시예 1-2의 방법에 따라 제조된 맥주의 맛을 미각 센서(taste sensor)를 이용한 맛 분석기(Insent, 5-1-1 Onna, Atsugi-shi, Kanagawa- Pref., Japan)를 사용하여 분석하였다. 상기 실시예 1-1에 따라 분리된 효모들을 이용하여 상기 실시예 1-2의 방식에 따라 제조하여 준비된 각각의 분석 시료 35mL와 시중에서 판매되는 O사의 C 맥주를 비교하여 분석하였고, 맛을 4회 측정한 후 1회 차 측정값을 제외한 나머지 측정값으로 평균을 구하였다. 각 시료의 분석이 끝난 후에는 센서를 표준용액(30 mM KCl + 0.3 mM tartaric acid)으로 세척하였고, 보정액으로는 10mM KCl 용액을 사용 하였다. 미각 센서 기기는 TS-5000Z를 이용하였고, 센서는 food stuff sensor 5종(CT0, C00, AAE, CA0 및 AE1) 및 단맛 측정용 센서(GL1)를 장착하여 4회 반복 측정하였으며, 측정결과는 분석 소프트웨어(Taste analysis application, Insent, Japan)를 이용하여 센서의 전극을 이용한 측정값을 맛의 수치로 변화시켜 나타내었다.

[0052] [표 1]

[0053]

Sample name	Sourness	Bitterness	Astringency	Aftertaste-B	Aftertaste-A	Umami	Richness	Saltiness
O사 C 맥주	-11.64	11.09	1.72	5.14	1.25	5.71	1.7	-3.43
NIBRFGC000498868균주를 이용한 맥주	-11.73	18.98	5.96	13.18	4.10	6.07	1.96	1.45

[0055] 그 결과, NIBRFGC000498868로 넘버링된 효모 균주가 O사의 C 맥주에 비해 모든 항목에서 우수한 맛의 수치를 보유하는 것을 확인하였고, 상기 효모 균주를 동정하고, 상기 효모와 이를 이용한 맥주의 특성을 분석하였다(도 1 참조).

[0057] **실시예 3. 효모 균주의 동정 및 MLST 분석**

[0058] **3-1 ITS 서열 확인**

[0059] 선발된 NIBRFGC000498868 균주의 동정은 다음과 같은 방법으로 진행하였다. 우선 균주 동정에 필요한 genomic DNA는 다음과 같이 얻어내었다. 선발된 균주는 YPD(Yeast extract 1%, Peptone 2%, Dextrose 2%) 배지에 이틀 동안 30℃에서 배양하였다. 배양된 균주는 원심분리하여 그 배양체를 수득한 후에 액체 질소로 급격하게 얼린 후 효모 균체를 미세하게 분쇄하였다. 분쇄된 균체에 lysis buffer(200mM Tris-HCl pH8.5, 250mM NaCl, 25mM EDTA, 0.5% SDS) 500㎕를 첨가하여 잘 섞어주었다. 이후 phenol/chloroform/isoamyl alcohol(25 :25: 1)의 혼합용액 500㎕를 첨가하여 혼합한 후, 4℃, 12,000rpm에서 30분간 원심 분리를 진행하였다. 상층액을 취해 3M 소듐 아세테이트(sodium acetate) 150㎕를 첨가하여 혼합한 후, 이소프로필 알코올(isopropyl alcohol) 900㎕를 첨가하여 다시 섞어준 뒤, 4℃, 12,000rpm의 조건에서 5분간 원심 분리를 진행하였다. 이 후, 상층액을 제거한 뒤 70% 에탄올 500㎕를 첨가하고, 4℃, 12,000rpm 조건에서 1분간 원심 분리를 진행하였다. 상층액을 제거한 후 45℃에서 에탄올을 증발시킨 다음, 20㎍/mL의 RNase A를 함유하는 TE buffer(100mM Tris-HCl pH 8, 10mM EDTA)를 30 ㎕ 첨가하여 genomic DNA를 얻어내었다. 추출된 각 genomic DNA는 rDNA-ITS 부분을 ITS 1(TCCGTAGGTGAACCTGCGG)과 ITS 4(TCCTCCGCTTATTGATATGC)를 이용해 PCR 증폭하였다. PCR 조건은 재조합 Taq 중합효소(recombinant Taq polymerase)를 이용하여 초기 변성(initial denaturation) 95℃, 5분을 수행한 뒤, 변성(denaturation) 95℃, 1분, 어닐링(annealing) 55℃, 1분, 및 신장(extension) 72℃, 1분 조건으로 25회 수행하였고, 마지막 신장은 72℃, 5분 조건에서 추가로 수행하였다. 증폭된 서열번호 1의 ITS 단편의 유전자 염기서열을 확인하였다. BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) 프로그램을 이용하여 유전자의 상동성을 근거로 하여 상기 NIBRFGC000498868 균주의 ITS 서열을 비교분석하였고, NIBRFGC000498868가 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 균주임을 계통분석을 통해 확인하였다.

[0061] **3-2 Housekeeping 유전자에 대한 MLST 분석**

[0062] 본 발명의 NIBRFGC000498868 효모 균주와 상업적으로 판매되고 있는 효모 균주들과 비교하여 Housekeeping gene에 대한 효소 활성을 비교하여 MunR 등이 수행한 MLST(Multilocus sequence typing) 방식을 이용하여 분석하였다(MunR, GoA, Robles V, RodriP, Cebollero E, Tabera L, Carrascosa AV, Gonzalez R, Multilocus sequence typing of oenological Saccharomyces cerevisiae strains, 2009. Food Microbiology 26, 841846).

[0063] Housekeeping 유전자는 ADP1(ATP-Dependent Permease), ACC1(Acetyl-CoA carboxylase), NUP116(FG-nucleoporin component of central core of the nuclear pore complex), GLN4(Glutamine tRNA synthetase), RPN2(Subunit of the 26S proteasome), 및 MET4(Leucine-zipper transcriptional activator)의 총 6종의 housekeeping gene을 선택하였다.

[0064] 각각의 housekeeping 유전자에 대한 PCR 프라이머는 아래 표 2에 정리하였다.

[0065] [표 2]

프라이머	염기서열	증폭 사이즈(bp)
F_ADP1	5'-GAGCCTTCTATGAATGATTTG-3'	585
R_ADP1	5'-TTGATCGACGAACCCGATTAT-3'	
F_ACC1	5'-GCAAGAGAAATTTTGATTCAAGG-3'	492
R_ACC1	5'-TTCATCAACATCATCTAAATG-3'	
F_NUP116	5'-AAGCAACTGTCACCAACACG-3'	501
R_NUP116	5'-CTTCCCCATCGTTCTTTGAG-3'	
F_GLN4	5'-GAGATTGTCAAGAATAAAAAGGT-3'	489
R_GLN4	5'-GTCTCTCTCATCCTTTGGACC-3'	
F_RPN2	5'-TTTATGCACGCTGGTACTAC-3'	450
R_RPN2	5'-GAGACCCATACCTAATGCAG-3'	
F_MET4	5'-CGAGGATAAGCCGAGCAA-3'	395
R_MET4	5'-GCGCATCCACTCCATTGT-3'	

[0066]

[0068] 상기 6종 housekeeping 유전자의 정방향 프라이머와 역방향 프라이머에 대한 DNA 서열 데이터를 얻어내고 염기서열분석 소프트웨어 Lasergene(DNASTAR, Madison, WI)의 SeqMan 프로그램을 사용하여 어셈블리(assembly)를 진행하였다. 확인된 염기 서열은 NCBI(National Center for Biotechnology Information)-BLAST (Basic local

sequence alignment search Tool) 프로그램을 사용하여 증폭된 PCR 산물이 housekeeping 유전자와 일치하는지 확인하였다.

[0069] 그리고, Saccharomyces Genome Database(SGD)에서 제공되는 housekeeping 유전자의 전체 염기서열을 표준으로 정하고, PCR 산물의 어셈블리 서열과 비교, 분석을 하였다. Housekeeping 유전자 표준 염기서열과 어셈블리 염기서열을 FASTA 포맷으로 작성한 뒤 Clustal Omega alignments 프로그램을 사용하여 분석하였다. 효모 균주 별로 염기서열을 비교하여 차이가 있는지 확인하고 차이가 있는 다형성 부위(polymorphic site)의 염기를 분류하여 유전자형(genotype)으로 표기하였다.

[0071] 다형성 부위(Polymorphic site)에서 동형 부위(homozygous site)와 이형 부위(Heterozygous site)의 두 가지 결과가 나타났다. 이형 부위에는 R(A,G), K(G, T), M(A, C), S(C, G), Y(C, T), 및 W(A, T)의 혼합된 염기(mixed base)가 존재하였다.

[0072] 하기 [표 3]의 결과를 참고하면, MLST 분석을 통해 본 발명의 NIBRFGC000498868 효모 균주와 상업적으로 판매하는 상용균주들의 유전형질에 큰 차이가 있음을 확인할 수 있었고, ITS 서열분석 결과와 MLST 분석 결과를 토대로 본 발명의 NIBRFGC000498868 효모 균주가 신균주임을 확인할 수 있었다(도 2 참조).

[0073] [표 3]

Genotype	ADP1 유전자	다양성 부위 (유전자 위치 bp)	
		1050	1109
1	실험용 비교 균주 (*S. cerevisiae* S288C)	A	A
2	실시예 균주 (NIBRFGC000498868)	G	G
1	산업용 맥주 발효 균주 A	A	A
1	산업용 맥주 발효 균주 B	A	A

Genotype	ACC1 유전자	다양성 부위 (유전자 위치 bp)				
		3123	3363	3429	3462	3504
1	실험용 비교 균주	T	C	T	G	G
2	실시예 균주	C	T	C	A	A
2	산업용 맥주 발효 균주 A	C	T	C	A	A
1	산업용 맥주 발효 균주 B	T	C	T	G	G

Genotype	NUP116 유전자	다양성 부위 (유전자 위치 bp)					
		2335	2382	2412	2442	2454	2604
1	실험용 비교 균주	G	A	G	G	C	C
2	실시예 균주	A	A	G	G	C	C
3	산업용 맥주 발효 균주 A	G	G	C	G	A	T
4	산업용 맥주 발효 균주 B	G	R	S	K	M	Y

Genotype	GLN4 유전자	다양성 부위 (유전자 위치 bp)	
		195	450
1	실험용 비교 균주	A	C
2	실시예 균주	C	T
3	산업용 맥주 발효 균주 A	R	C
1	산업용 맥주 발효 균주 B	A	C

Genotype	RPN2 유전자	다양성 부위 (유전자 위치 bp)	
		1137	1242
1	실험용 비교 균주	A	C
2	실시예 균주	A	A
2	산업용 맥주 발효 균주 A	A	A
3	산업용 맥주 발효 균주 B	G	C

Genotype	MET4 유전자	다양성 부위 (유전자 위치 bp)			
		630	716	759	792
1	실험용 비교 균주	T	G	C	T
2	실시예 균주	T	G	Y	A
3	산업용 맥주 발효 균주 A	Y	K	T	A
4	산업용 맥주 발효 균주 B	C	T	T	A

[0074]

[0076] **실시예 4. 맥주의 이화학적 분석**

[0077] **4-1 이화학적 분석**

[0078] 상기 실시예 1-2에서 제조된 맥주의 환원당, 산도, 알코올 함량에 대한 이화학적인 특성을 분석하였다.

[0079] 환원당 분석은 DNS(dinitrosalicylic acid)법을 이용하여 측정하였다.

[0080] 맥주시료를 원심분리 후, 여과하여 1mL를 취한 후 DNS 용액을 3mL를 첨가하고 100℃에 10-15분간 반응 시킨 다음 증류수 21mL를 첨가하여 섞어준 후 분광광도계(Genesys 10-S, Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 포도당을 표준당으로 하여 환원당을 계산하였다.

[0081] 산도는 국세청 주류분석규정에 따라 여과된 시료를 정확히 10 mL을 채취하여 100mL 삼각플라스크에 넣은 후 혼합지시약(B.T.B & N.R)을 2~3 방울 떨어뜨리고, 0.1N NaOH 용액으로 중화 적정하며 시료의 pH가 6.85-7.0가 될 때까지 적정하면서 0.1 N 수산화나트륨 용액의 소비 mL 수치를 측정하여 산도로 하였다.

[0082] 알코올 함량은 주류분석규정에 따라 측정하였다. 맥주시료를 원심 분리 후 여과하여 100mL를 메스실린더에 채운 다음 500mL 삼각플라스크에 옮기고 30mL 증류수로 메스실린더에 남은 여과액을 1회 씻은 후 그 액을 여과액이 들어있는 500mL 삼각플라스크에 추가로 더 넣어주었다. 그 후 플라스크를 알코올 증류기에 연결시키고 증류액이 냉각되어 나오는 관에 메스실린더를 연결하여 증류액 80mL를 받은 다음 100mL가 될 때까지 증류수로 채운다. 증류된 용액을 density meter(DMA 35, Anton paar, Austria)를 사용하여 알코올 함량을 측정하였다.

[0083] 크래프트 맥주 제조에 가장 많이 사용되는 수입효모 균주 E를 이용하여 실시예 1-2의 방식과 동일한 방식으로 제조한 맥주를 비교예로 사용하여 비교 실험하였고, 그 결과를 하기 [표 4]에 나타내었다.

[0085] [표 4]

[0086]

구분	산도(ml)	pH	알코올(%, v/v)	환원당(mg/ml)
효모 E 1day	0.55	5.23		53.41
효모 E 3day	0.65	4.78	1.8	34.53
효모 E 6day	0.85	4.39	4.1	16.54
실시예 1day	1.2	4.91		42.78
실시예 3day	1	4.57	1.7	34.75
실시예 6day	1.3	4.36	2.6	20.79
실시예 9day	1.2	4.28	3.3	14.86
실시예 12day	1.3	4.19	3.9	10.87

[0088] 그 결과, 본 발명의 균주를 이용하여 제조한 맥주는 상용 효모 균주를 이용하여 제조한 맥주에 비해, 산도가 높고, pH가 낮으며, 환원당 함량이 낮은 특징이 관찰되었다.

[0090] **4-2 맥주의 유기산 조성**

[0091] 맥주의 유기산은 post-column 방법을 적용하여 분석하였다. 분석은 아래 [표 5]의 조건에서 수행하였고, 결과는 아래 [표 6]에 나타내었다.

[0092] 분석 결과, 시트릭산, 말릭산 및 젖산 함량은 본 발명의 균주를 이용하여 제조한 맥주와 상용효모 E를 이용하여 제조한 맥주에서 큰 차이가 없었으나, 감칠맛을 내는 호박산(succinic acid)과 산미를 내는 초산 함량에서 본 발명의 균주를 이용하여 제조한 맥주가 비교예의 균주 보다 2배정도 높은 값을 나타내었다.

[0093] 상기 결과를 토대로, 본 발명의 NIBRFGC000498868 효모 균주를 이용하여 제조한 맥주는 감칠맛과 산미가 증가된 에일 맥주의 특성이 있는 것으로 분석되었다.

[0095] [표 5]

분리(Seperation)	
장비	HP 1100 series HPLC (Agilent, USA)
컬럼	Shodex RS pak KC-LG(8.0 mm x 50 mm), KC-811(8.0 mm I.D x 300 mm)
컬럼 온도	80℃
유속	0.7 mL/min (pressure: 37 bar)
이동상	3 mM perchloric acid
인젝션 볼륨	10 μL
검출(Detection)	
검출장비	DAD (Agilent, USA)
Reaction reagent	0.2 mM BTB (bromothymol blue), 15 mM Na2HPO4, 2 mM NaOH
유속	0.7 mL/min (pressure: 18 bar)

[0096]

[0098] [표 6]

	Citric acid	Malic acid	Succinic acid	Lactic acid	Acetic acid
실시예	193.456	135.552	254.523	116.372	167.638
	193.617	121.135	248.854	99.643	148.84
	227.4	133.727	222.649	56.211	152.193
평균+표준편차	204.82±15.96	130.14±6.41	242.01±13.88	90.74±25.35	156.22±8.19
효모 E	241.493	162.45	102.841	96.299	61.238
	203.612	122.109	141.358	121.481	85.416
	211.713	165.111	161.862	95.513	65.237
평균+표준편차	218.94±16.29	149.89±19.67	135.35±24.47	104.43±12.06	70.63±10.58

[0099]

[0101] **실시예 5. 향기성분 분석**

[0102] 향기 성분은 GC-MS(Agilent 6890N GC/Agilent 5973 MSD, Agilent Co., Pal Alto, CA, USA)를 사용하여 분석하였다. 휘발성 성분의 추출에는 SPME fiber(50/30 μm divinylbenzene, carboxen on polydimethylsiloxane., Supelco Co., Bellefonte, PA, USA)를 사용하였고, 맥주 시료 10mL을 20mL 헤드스페이스 바이알(headspace vial)에 넣고 테플론 캡(teflon cap)으로 밀봉한 다음 50℃에서 교반시키며 30분간 유지시킨 후, SPME fiber를 노출시켜 30분 동안 fiber에 휘발성 성분들을 흡착시킨 다음 GC-MS의 injector(200℃)에 fiber를 노출시키고 5분 동안 탈착시켰다. 크로마토그래피를 수행하기 위한 GC/MS의 컬럼은 DB-5ms(60m length×0.25 mm i.d. × 0.25μm film thickness: J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였고, 오븐 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후, 200℃까지 5℃/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. 인젝터(Injector) 온도는 200℃, 디텍터(detector) 온도는 250℃였고, 캐리어 가스(carrier gas)로는 헬륨을 사용하였고, 유속은 1.1mL/min으로 하고, 전리전압(ionization voltage)은 70eV, 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33-500으로 하여 분석하였다.

[0103] 분석 결과, 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)을 이용하여 제조된 맥주에는 향기성분으로 알려진 이소아밀알코올(3-methyl-1-butanol), 이소아밀아세테이트(1-butanol-3-methyl acetate), 헥사노익산에틸에스터(Hexanoic acid ethyl ester), 벤젠에탄올(benzene ethanol), 2,3-디하이드로-3,5-디하이드록시-6-메틸-4수소-파이-4-론(2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one), 옥타노익산(Octanoic acid), 옥타노익산 에틸에스터(Octanoic acid, ethyl ester), 9-데카노익

산(9-decenoic acid), 아세트산 펜에틸에스터(Acetic acid, phenethyl ester), 2-메톡시-4-비닐페놀(2-Methoxy-4-vinylphenol), 및 펜타노익산-2,2,4-트리메틸-3-카복시이소프로필-이소부틸에스터(Pentanoic acid-2,2,4-trimethyl-3- carboxy isopropyl, isobutyl ester) 등의 화합물들이 다수 검출되었다.

[0104] 크래프트 맥주를 제조하는데 가장 많이 사용되고 있는 상용효모 E로 제조된 비교예의 맥주와는 달리, 본 발명의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)을 이용한 맥주는 이소아밀알코올, 이소아밀아세테이트, 9-데카노익산. 및 펜타노익산,2,2,4-트리메틸-3-카복시이소프로필,이소부틸에스터가 다량 검출되었는데, 이들 성분은 과실에 많이 포함되어 있는 에스테르 향기 성분이다.

[0105] 또한, 사과 또는 아니스 향을 내는 헥사노익산에틸에스터 화합물은 비교예의 맥주에 비해 22% 높은 것으로 측정되었고, 카라멜 향을 내고 항산화 효과가 있는 것으로 알려진 2,3-디하이드로-3,5-디하이드록시-6-메틸-4수소-파이-4-론 화합물은 859% 높은 것으로 측정되었으며, 장미향을 내는 향미성분으로 잘 알려진 벤젠에탄올 화합물은 49.5% 높은 것으로 측정되었고, 고급 위스키의 퓨젤성분으로 알려진 옥타노익산 및 옥타노익산 에틸에스터 성분은 각각 315% 및 32% 높은 것으로 측정되었으며, 바나나 또는 클로브 향을 내고 홉 향을 살려주는 중요한 향미성분으로 알려진 2메톡시4비닐페놀 화합물이 121% 높은 것으로 측정되는 등, 대표적인 수입산 맥주 효모로 주조한 맥주에 비해 실시예의 맥주에서 향미성분들의 함량이 매우 높은 것으로 측정되었다.

[0107] [표 7]

Compound	상용효모 E Peak(area)	실시예 Peak(area)
이소아밀알코올(1-butanol,3-methyl-)	0	28,397,942.50
이소아밀아세테이트(1-butanol 3-methyl-acetate)	0	10,768,897.30
헥사노익산에틸에스터(Hexanoic acid ethyl ester)	6,493,051.00	7,945,470.30
벤젠에탄올(benzene ethanol)	37,455,450.70	55,986,424.70
2,3-디하이드로-3,5-디하이드록시-6-메틸-4수소-파이-4-론 (2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one)	8,687,090.70	83,340,385.30
옥타노익산(Octanoic acid)	20,300,486.00	84,241,723.00
옥타노익산 에틸에스터(Octanoic acid, ethyl ester)	12,775,756.00	16,916,372.70
9-데카노익산(9-decenoic acid)	0	174,981,853.30
아세트산,펜에틸에스터(Acetic acid , phenethyl ester)	0	20,952,867.00
2메톡시4비닐페놀(2-Methoxy-4-vinylphenol)	2,592,067.70	5,731,081.30
펜타노익산,2,2,4-트리메틸-3-카복시이소프로필,이소부틸에스터(Pentanoic acid,2,2,4-trimethyl-3-carboxy isopropyl, isobutyl ester)	0	5,303,058.33

[0108]

[0110] 상기와 같은 결과를 통해, 본 발명의 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)은 발효 과정에서 바나나, 사과, 포도 등의 과일향, 카라멜향, 그리고, 아니스 및 정향의 시원한 향 등을 내는 이소아밀알코올, 이소아밀아세테이트 등의 화합물을 대량 생산함을 정량적으로 확인하였고, 동 균주를 이용하여 향미 기여 성분인 에스테르 성분이 강화되어 관능성이 개선된

맥주를 제조할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0112] **실시예 6. 양조용 효모 균주의 배양공정 최적화**

[0113] 본 균주를 일반배지를 사용하여 플라스크 단위로 배양하는 것은 산업적으로 이용가능성이 낮으므로 이러한 문제점을 해결하고 경제적인 생산을 위해 5L 발효조(jar fermentor level)에서 배양하여 최적화된 배양공정을 연구하였다.

[0115] 발효조(Fermentor)의 반응방식은 fed-batch로 운영조건은 배양 온도 30℃, 공기 공급 속도는 0.5vvm, 교반속도는 900rpm, pH는 5.75 수준으로 유지하여 총 volume 2.3L로 16시간 동안 배양하였다.

[0116] 최적화된 배지의 성분은 글루코오스(glucose)를 초기에 60g/L 그리고 11시간째에 추가 60g/L를 투입하였고, 추가적으로 발효 초기에 이스트 추출물(yeast extract) 10g/L, 펩톤(peptone) 20g/L, KH_2PO_4 1g/L, $MgSO_47H_2O$ 0.5g/L, NaCl 0.1g/L, $CaCl_2$ 0.1g/L, urea 2.5g/L를 추가하였으며, 암모니아수를 사용하여 pH 5.75 수준으로 유지하였다.

[0117] 상기 조건으로 배양하여 균체농도를 2시간 간격으로 측정하였고, 16시간째에 균체농도(O.D 600nm)가 80.2로 측정되어 정상기(stationary phase)가 시작되는 것을 확인하였고(표 8 및 도 3 참조), 균주생산 공정을 최적화하였다.

[0119] [표 8]

[0120]

Time(hr)	O.D	Glucose (g/L)	비고
0	0.7	60	
2	1.1	56.2	
4	4.1	56.6	
6	10.1	52.6	
8	22.8	41.5	
10	43.5	18.7	
11	55.5	4.3	
11.1	50.7	66.9	당 추가공급
12	58.1	57.4	
14	72.9	23.6	
16	80.2	0.6	

[0122] 상기와 같은 결과를 통해, 사카로마이세스 세레비제(Saccharomyces cerevisiae) 신균주 NIBRFGC000498868(기탁번호: KACC 93278P)로 발효하여 주조된 맥주는 미각센서를 통한 관능 테스트 결과 시중에서 판매되는 상업용 맥주에 비해 모든 항목에서 높은 관능미를 보유하고 있는 것을 확인할 수 있었고, 동 균주에 대한 ITS 서열분석 결과와 MLST 분석 결과를 토대로 본 발명의 NIBRFGC000498868 효모 균주가 신균주임을 확인할 수 있었다.

[0123] 또한, 동 균주로 주조된 맥주는 감칠맛과 산미가 증가된 에일 맥주의 특성이 있는 것으로 분석되었고, 발효 과정에서 바나나, 사과, 포도 등의 과일향, 카라멜향, 그리고, 아니스 및 정향의 시원한 향 등을 내는 이소아밀알

코올, 이소아밀아세테이트 등의 화합물을 대량 생산함을 정량적으로 확인하여 동 균주를 이용하여 향미 기여 성분인 에스테르 성분이 강화되어 관능성이 개선된 맥주를 제조할 수 있음을 과학적으로 증명할 수 있었다.

[0125] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

수탁번호

[0127]

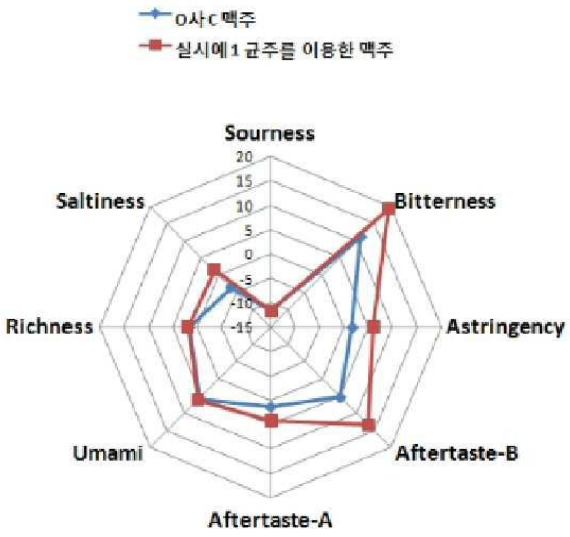
기탁기관명 : 국립농업과학원

수탁번호 : KACC93278P

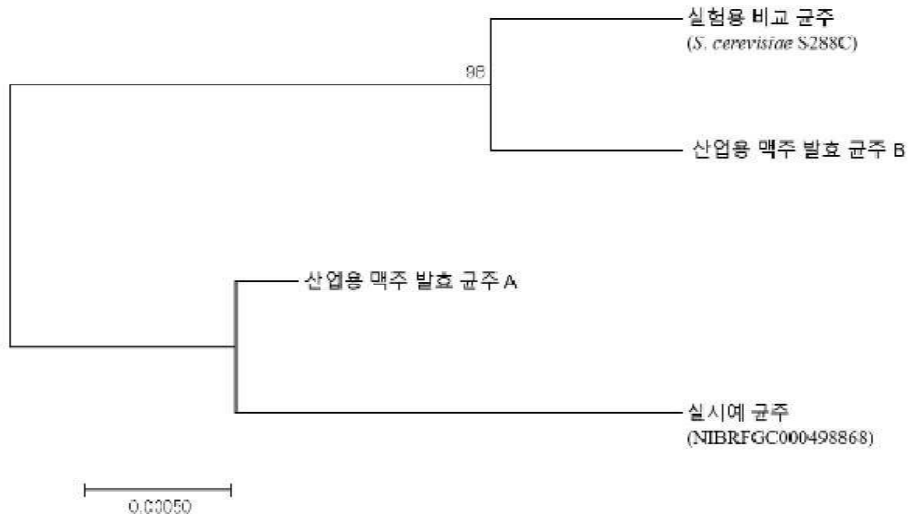
수탁일자 : 20170616

도면

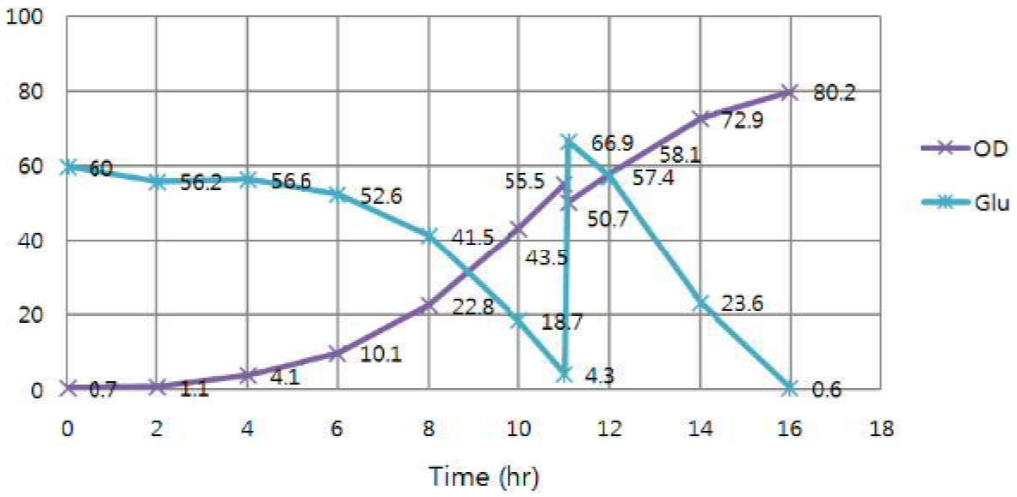
도면1



도면2



도면3



서 열 목 록

<110> NATIONAL INSTITUTE OF BIOLOGICAL RESOURCES

Hankyong National University the Industrial-Academic Cooperation Group

Kyung Hee University the Industrial-Academic Cooperation Group

Sookmyung Women's University the Industrial-Academic Cooperation Group

Chung-Ang University the Industrial-Academic Cooperation Group

<120> Peptide from Parapolybia varia having antitumor activity and uses thereof

<130> PN170006AN

<160> 1

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 813

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITS sequence

<400> 1

gggccctgtg gattatattt tgaatggatt tttttgtttt ggcaagagca tgagagcttt 60

tactgggcaa gaagacaaga gatggagagt ccagccgggc ctgcgcttaa gtgcgcggtc 120

ttgctaggct tgtaagtttc tttcttgcta ttccaaacgg tgagagattt ctgtgctttt 180

gttataggac aattaaaacc gtttcaatac aacacactgt ggagttttca tatctttgca 240

acttttttctt tgggcattcg agcaatcggg gcccagaggt aacaaacaca aacaatttta 300

tttattcatt aaatttttgt caaaaacaag aattttcgta actggaaatt ttaaaatatt 360

aaaaactttc aacaacggat ctcttggttc tcgcatcgat gaagaacgca gcgaaatgcg 420

atacgtaatg tgaattgcag aattccgtga atcatcgaat ctttgaacgc acattgcgcc 480

ccttggtatt ccaggggggca tgcctgtttg agcgtcattt ccttctcaaa cattctgttt 540

ggtagtgagt gatactcttt ggagttaact tgaaattgct ggccttttca ttggatgttt 600

tttttccaaa gagaggtttc tctgcgtgct taggtataat gcaagtacgg tcgttttagg 660

ttttaccaac tgcggctaat ctttttttata ctgagcgtat tggaacgtta tcgataagaa 720

gagagcgtct aggcgaacaa tgttcttaaa gtttgacctc aaatcaggta ggagtacccg 780

ctgaacttaa gcatatcaat aagccggagg gaa 813