



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0106743
(43) 공개일자 2010년10월04일

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01) A23L 2/02 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0024870

(22) 출원일자 2009년03월24일

심사청구일자 2009년03월24일

(71) 출원인

경원대학교 산학협력단

경기도 성남시 수정구 복정동 산 65

주식회사 그린바이오

경기 이천시 부발읍 무촌리 513-46, 28

(뒷면에 계속)

(72) 발명자

박영서

경기도 성남시 분당구 서현동 우성아파트 225동 1501호

장재권

서울특별시 송파구 문정동 가락1차 현대아파트 14동 808호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 천지

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 신규한 유산균 및 이를 이용한 양파 발효 음료의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 김치로부터 분리되고 양파 착즙액의 유산 발효능(lactic fermentation activity)이 우수한 미생물, 구체적으로 김치로부터 분리되고, 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수하며, 양파 착즙액을 발효하여, 말론산 및 유산을 생성할 수 있고, 산 생성능이 우수하며, 위해 미생물에 대한 항균활성을 갖는 페디오코쿠스 펜토사세우스(*Pediococcus pentosaceus*) 및 이를 이용한 양파 발효액의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명의 미생물은 양파 착즙액에 대한 유산 발효능 및 산 생성능이 우수하고, 위해 미생물에 대한 항균활성이 인정될 뿐만 아니라, 상기 미생물을 이용하여 양파 착즙액으로부터 제조된 양파 발효액은 상기 양파 착즙액에 비하여 항산화활성 및 항균활성이 개선되므로, 상기 미생물은 양파를 이용한 고기능성 음료의 제조를 포함한 양파와 관련된 다양한 산업분야에 이용될 수 있다.

대표도 - 도7



(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교내

선문대학교 산학협력단

충남 아산시 탕정면 갈산리 100 선문대학교

청강문화산업대학 산학협력단

경기 이천시 마장면 해월리 청강문화산업대학내

서울대학교 산학협력단

서울 관악구 신림동 산 56-1

(72) 발명자

최영진

서울특별시 강남구 삼성동 상아아파트 2동 206호

정명수

서울특별시 종로구 평창동 161-1 현대빌라 5동 201호

박훈

서울특별시 성동구 행당동 한신아파트 107동 2001호

심건섭

경기도 이천시 증포동 한솔솔파크 102동 1103호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 107062-3

부처명 농림수산식품부 농림기술관리센터

연구관리전문기관

연구사업명 농림수산식품연구개발사업

연구과제명 양파를 이용한 고기능성 발효음료 제조기술 개발 및 산업화

기여율

주관기관 경원대학교 산학협력단

연구기간 2007년 05월 30일 ~ 2010년 05년 29일

특허청구의 범위

청구항 1

김치로부터 분리되고, 산 생성능을 가지며, 양과 착즙액의 유산 발효능을 가지고, 양과 착즙액을 발효시켜 말론산 및 유산을 생성할 수 있으며, 람노스, 멜리바이오스 및 수크로스에 대한 당 대사능을 가진 기탁번호 KFCC 11439P를 갖는 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주(*Pediococcus pentosaceus* KFCC 11439P).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주는 람노스, 멜리바이오스, 수크로스, 라피노스, 아미그달린, N-아세틸 글루코사민 및 리보스에 대한 당 대사능을 가진 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주(*Pediococcus pentosaceus* KFCC 11439P).

청구항 3

양과 발효대상액을 제조하는 단계; 상기 양과 발효대상액에 제1항의 균주를 접종하는 단계 및 상기 균주가 접종된 양과 발효대상액을 발효시켜 양과 발효액을 제조하는 단계를 포함하는 양과 발효 음료의 제조방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 양과 발효대상액을 제조하는 단계는 양과를 착즙하여 양과 착즙액을 제조하는 과정 및 상기 양과 착즙액을 열처리하여 양과 발효대상액을 제조하는 과정을 포함하는 것인 양과 발효 음료의 제조방법.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 균주를 접종하는 단계는 상기 양과 발효대상액에 상기 양과 발효대상액의 부피를 기준으로 상기 균주가 7.5×10^6 내지 1.5×10^7 CFU/mL의 농도로 포함되도록 첨가하는 방법으로 수행하는 것인 양과 발효 음료의 제조방법.

청구항 6

제3항에 있어서,

상기 균주가 접종된 양과 발효대상액을 발효시키는 단계는 33 내지 42°C에서 수행하는 것인 양과 발효 음료의 제조방법.

청구항 7

제3항에 있어서,

양과 발효액에 사과즙 및 구연산을 첨가하고, 과당, 베타-사이클로덱스트린, 올리고당 및 사과향으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 더 첨가하고 혼합하는 단계를 추가로 포함하는 것인 양과 발효 음료의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 성분의 함량비는 각 성분의 중량을 기준으로 양과 발효액 25 내지 31 중량비, 사과즙 25 내지 31 중량비, 과당 1.8 내지 4 중량비, 베타-사이클로덱스트린 1.35 내지 2 중량비, 올리고당 0.8 내지 1.0 중량비, 사과향 0.1 내지 0.3 중량비 및 구연산 0.08 내지 0.12 중량비인 양과 발효 음료의 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 김치로부터 분리되고 양파 착즙액의 유산 발효능(lactic fermentation activity)이 우수한 미생물, 구체적으로 김치로부터 분리되고, 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수하며, 양파 착즙액을 발효하여, 말론산 및 유산을 생성할 수 있고, 산 생성능이 우수하며, 위해 미생물에 대한 항균활성을 갖는 페디오코쿠스 펜토사세우스(*Pediococcus pentosaceus*) 및 이를 이용한 양파 발효액의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 양파(*Allium cepa* L.)는 외떡잎식물 백합목 백합과에 속하는 다년초로서, 서아시아 또는 지중해 연안이 원산지라고 추측되고 있으며, 오랜 재배 역사를 가지고 있다. 향기성분의 특성으로 인하여 전 세계적으로 여러 가지 요리에 널리 향신료 및 조미료로 많이 사용되고 있다. 우리나라에서는 주로 남부지방에서 생산되며, 대부분 5월 내지 7월 사이에 수확된다. 수확된 양파는 주로 저온고에 저장되었다가, 수요량이 많은 시기에 출하하는데, 생산량은 약 90% 이상이 생채로 저온 저장되었다가 출하되고, 일부는 절임용 또는 건조가공용 등으로 소비되고 있다.

[0003] 양파의 독특한 냄새는 육류의 좋지 못한 냄새나 맛을 제거하는데 효과적일 뿐만 아니라 방부효과도 있는 것으로 알려져 주로 고기 등의 요리에 향신료로 사용되고 있다. 또한, 영양학적으로 양파에는 각종 비타민과 함께 칼슘 및 인산 등의 무기질이 들어 있는 것으로 보고되어 있다.

[0004] 민간요법에서는 스테미너 식품으로 정력을 좋게 하고 신진대사를 높여주며, 각종 균에 대한 항균 효과가 있고, 장에서 소화효소의 작용을 높여주며, 혈액 중의 유해 물질을 제거하고 모세혈관을 보호하여 혈액순환에 도움이 되므로, 혈압이나 동맥경화증의 예방에 좋은 것으로 알려져 있다. 또한, 양파의 비늘줄기에 있는 이노 등의 효과가 있는 이황화프로필 및 황화알릴 등의 화합물이 포함되어 있어 이노제 및 거담제로서 사용되기도 한다.

[0005] 최근 양파를 많이 섭취한 사람들의 경우, 암이나 심혈관계질환 등 노화와 관련된 각종 질환의 발생률이 현저히 떨어진다는 보고가 잇따르면서, 건강기능성 소재로서 양파에 대한 소비자들의 인식이 매우 높아져 있다.

[0006] 현재 양파의 국내 자급률은 100%에 이를 정도로 양파의 국내 생산량이 높아, 상기 다양한 효능 및 용도에도 불구하고, 보다 다양한 양파의 이용방법이 요구되고 있는 실정이다.

[0007] 이러한 요구에 따라, 양파의 새로운 이용방법 및 제품에 대한 연구가 진행되고 있다. 현재 진행된 양파에 관한 제품 연구로는 양파스낵 제조에 관한 연구, 건조 양파 착즙박과 건조 양파를 이용한 압출스낵의 물리적 특성에 관한 연구를 바탕으로 양파 착즙박과 양파를 이용한 압출스낵을 제조하기 위한 연구, 양파분말을 첨가한 식빵의 품질 특성에 관한 연구 및 양파를 첨가한 딸기잼의 품질 특성에 관한 연구를 포함한 양파의 새로운 이용 용도 개발을 위한 연구, 양파의 유효성분 중, 항균활성 및 항산화활성 등이 우수한 것으로 확인된 퀘르세틴(quercetin)의 추출 및 분리에 관한 연구 등 양파의 유효성분에 관한 연구, 건조 양파의 저장 안정성 확보를 위한 연구를 포함한 양파 유통기한 증가를 위한 연구 등이 보고되어 있다. 또한, 양파의 소비 촉진에 많은 도움을 줄 수 있는 양파음료의 제조 및 기능성 식품화에 관한 연구도 진행된 예가 있으나, 현재 양파음료 및 양파의 기능성 식품화와 관련된 연구는 제한적이어서, 소비자의 다양한 기호를 충족시키지 못하고 있는 실정이다.

[0008] 양파 음료와 관련된 연구는 양파특유의 매운 맛이나 특이취를 제어하고, 부재료 특유의 향이나 기능성을 부가시키기 위하여, 양파즙에 한약재의 열수추출액을 첨가한 양파음료, 양파의 이취를 제거하기 위하여, 열처리 및 숙성 공정을 진행하는 양파음료, 양파즙 및 양파분쇄액을 끓여서 양파의 냄새를 제거하면서 저장성을 증대시킨 양파음료, 양조용 효모를 이용한 양파 발효주 등이 연구되어 왔으나, 양파의 기능성 강화를 위한 연구 특히, 유산균을 이용한 발효 공정을 통해 양파 음료의 기능성을 강화시키기 위한 연구는 전혀 진행된 예가 없다.

[0009] 한편, 유산균은 자연계에 널리 존재하며 탄수화물을 혐기적으로 이용하여 유산을 생산할 수 있는 미생물로, 유산발효를 통하여 식품의 부패를 방지하고, 박테리옌과 같은 항균물질을 분비하여 식중독균 등 위해 세균을 억제하며, 사람의 장내 pH를 낮추어 장내 부패세균의 증식을 억제하는 등의 효과를 가지는 인체에 유익한 미생물이다. 또한, 유산균은 영양학적 가치를 증진시킬 수 있고, 내인성 감염을 억제할 수 있으며, 간경화를 개선할 수 있고, 항암작용 또는 돌연변이 억제효과가 있거나 노화억제 작용이 있는 것으로 보고되고 있다. 또한, 피부 미용 효과의 측면에서 연구되기도 하고, 우유섭취와 관련하여 유당불내증을 경감하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다.

[0010] 유산균에 대한 연구는 주로 유제품과 관련하여 진행되어, 유산균을 이용한 제품은 우유를 주재료로 하여 발효시

킨 제품이 거의 대부분이며, 우유에 존재하는 유당을 잘 소화시키지 못하여 유당불내증으로 고생하는 사람의 비율이 높은 우리나라에서는 특히 이에 대한 연구가 주로 진행되어 왔다. 최근에는 유산균의 특이한 생리활성과 관련하여, 위 또는 장의 기능을 개선하는 제품이 생산되기도 하였다. 그러나, 서양의 전통 발효식품인 유제품과 달리 우리나라의 발효식품인 된장, 낫또, 청국장 및 김치 유래 유산균에 대한 연구는 제한적이었고, 최근에 들어서야 그 체계가 정리되고 있는 실정이다. 더 나아가, 현재까지는 농산물 특히 국내 다수의 농가에서 생산되고 있는 양파의 기능성 강화 또는 양파의 소비 촉진을 위한 유산균에 대한 연구는 전혀 진행되고 있지 않다.

[0011] 따라서, 국내 소비량을 초과하여 생산될 수 있어, 그 소비촉진을 위한 새로운 이용형태의 개발이 요구되는 양파와 관련하여, 그 기능성을 강화시킬 수 있는 대안으로 이와 관련된 유산균에 대한 연구 및 이를 이용한 양파를 주재료로 하는 제품에 대한 개발의 필요성이 대두 되고 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0012] 본 발명은 양파의 발효능, 구체적으로 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수하고, 양파를 발효시켜 기능성을 부가시킬 수 있는 미생물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0013] 본 발명은 상기 미생물을 이용하여, 양파 발효 음료를 제조하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 김치로부터 분리되고 양파 착즙액의 유산 발효능을 가진 페디오코쿠스 펜토사세우스(*Pediococcus pentosaceus*) 균주를 제공한다. 바람직하게는 상기 균주는 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수하고, 양파 착즙액을 발효시켜 말론산 및 유산을 생성할 수 있으며, 산 생성능이 우수한 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주일 수 있다.

[0015] 또한, 본 발명은 양파 발효대상액을 제조하는 단계; 상기 양파 발효대상액에 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주를 접종하는 단계 및 상기 균주가 접종된 양파 발효대상액을 발효시켜 양파 발효액을 제조하는 단계를 포함하는 양파 발효 음료의 제조방법 및 상기 제조방법에 의해 제조된 양파 발효 음료를 제공한다.

[0016] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0017] 본 발명에서 배양배지란 동물세포, 식물세포 또는 세균 따위를 기르는 데 필요한 영양소가 들어 있는 고체배지 또는 액체배지를 의미하며, 배양액이란 액체배지에 균주를 접종하여 배양한 것을 의미한다. 상기 배양액은 균주를 포함하는 것 또는 균주를 접종하여 배양한 후, 배양액 중 균주를 제거(cell-free)한 배양여액일 수 있다. 상기 배양액의 농축액이란 상기 배양액을 농축한 것을 말하고, 상기 배양액의 건조물이란 상기 배양액의 물기를 없앤 것 또는 수분을 제거한 것을 의미한다.

[0018] 본 발명자들은 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수하고, 양파를 발효시켜 기능성을 부가시킬 수 있는 미생물에 대해 GRAS(generally regarded as safe) 미생물인 유산균을 대상으로 연구하던 중, 산 생성능이 우수하고, 기능성이 인정되어 후보균으로 인정된 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007(*Pediococcus pentosaceus* KC-007)을 양파 착즙액에 접종하여 발효시키는 경우 항산화 효과 및 항균 효과가 우수한 양파 발효 음료를 제조할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0019] 본 발명은 김치로부터 분리되고 양파 착즙액의 유산 발효능을 가진 페디오코쿠스 펜토사세우스(*Pediococcus pentosaceus*) 균주, 보다 구체적으로는 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수하고, 양파 착즙액을 발효시켜 말론산 및 유산을 생성할 수 있으며, 산 생성능이 우수한 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007(*Pediococcus pentosaceus* KC-007)에 관한 것이다.

[0020] 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주 KC-007(*Pediococcus pentosaceus* KC-007)은 대한민국 서울특별시 서대문구 홍제1동 361-221번지 유림빌딩 2층에 위치한 한국미생물보존센터에 2009년 1월 28일자로 기탁하여, 수탁번호 KFCC 11439P를 부여 받았다.

[0021] 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주는 구체적으로 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007, 더욱 구체적으로는 김치로부터 분리되고 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수하고, 양파 착즙액을 발효시켜 말론산 및 유산을 생성할 수 있으며, 산 생성능이 우수하며, 기탁번호 KFCC 11439P를 갖는 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주(*Pediococcus pentosaceus* KFCC 11439P)일 수 있다.

- [0022] 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주 KC-007은 김치로부터 분리되고 유산 발효능을 가진 균주, 바람직하게는 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수하여 양파 착즙액의 발효효율이 좋고, 양파 착즙액을 발효시켜 유산뿐만 아니라 말론산을 생성할 수 있으며, 산 생성능이 우수한 기탁번호 KFCC 11439P를 갖는 페디오코쿠스 펜토사세우스일 수 있다. 상기 균주는 상기 균주를 이용하여 제조된 양파 발효액, 구체적으로 양파 착즙액의 발효액에 항균활성 및 항산화활성 등과 같은 생리활성을 부가하거나 이를 강화시킬 수 있으며, 구체적으로는 하기와 같은 균학적 성질을 갖는 균주이다.
- [0023] 보다 구체적으로, 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주 KC-007은 운동성이 없는 그람 양성(Gram-positive)의 사구균으로, 포자염색에서 음성반응을 나타낸 무포자 균이고, catalase 활성도 음성인 전형적인 유산균이다. 또한, 포도당으로부터 가스를 생성하지 않아, 정상 유산발효(homo lactic fermentation)을 하는 것으로 확인되었다.
- [0024] 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주 KC-007은 16S rRNA 염기서열 분석결과 공시균주인 페디오코쿠스 펜토사세우스 MY-800, 페디오코쿠스 펜토사세우스 NRIC 0123 및 페디오코쿠스 펜토사세우스 ATCC 25745와 99.9%의 높은 상동성을 나타내어, 페디오코쿠스 펜토사세우스로 동정되었다.
- [0025] 또한, 본 발명인 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주 KC-007은 기존 보고된 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주들과 달리 람노스(Rhamnose), 멜리바이오스(Melibiose), 라피노스(Raffinose) 및 수크로스(sucrose, D-Saccharose)를 당 공급원으로 이용할 수 있는 것으로 확인되었다.
- [0026] 또한, 본 발명은 상기 미생물을 이용하여, 양파 발효 음료를 제조하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0027] 상기 양파 발효 음료의 제조방법은 양파 발효대상액을 제조하는 단계; 상기 양파 발효대상액에 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주를 접종하는 단계 및 상기 균주가 접종된 양파 발효대상액을 발효시켜 양파 발효액을 제조하는 단계를 포함하는 양파 발효 음료의 제조방법일 수 있다.
- [0028] 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주는 바람직하게는 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007(*Pediococcus pentosaceus* KC-007), 더욱 바람직하게는 김치로부터 분리되고 유산 발효능을 가지며 항균활성이 있고, 기탁번호 KFCC 11439P를 갖는 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주(*Pediococcus pentosaceus* KFCC 11439P)일 수 있다.
- [0029] 상기 양파 발효대상액을 제조하는 단계는 양파를 착즙하여 양파 착즙액을 제조하는 과정 및 상기 양파 착즙액을 열처리하여 양파 발효대상액을 제조하는 과정을 포함하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0030] 상기 양파 착즙액을 제조하는 과정은 양파를 통상의 착즙방법으로 착즙하여 양파 착즙 또는 양파 생즙을 제조하는 방법으로 수행할 수 있다. 상기 양파 착즙액을 제조하는 과정은 일 예로, 양파를 박피하고 세척하고 절단하는 과정; 상기 세척된 양파를 분쇄기로 분쇄하는 과정 및 상기 분쇄된 양파를 착즙하는 과정을 포함하는 방법으로 수행할 수 있고, 상기 분쇄는 녹즙기와 같은 믹서를 이용할 수 있고, 상기 착즙과정은 부직포를 이용하거나 원심분리기를 이용할 수 있다.
- [0031] 상기 양파 발효대상액을 제조하는 과정은 상기 양파 착즙액을 100 내지 140℃, 바람직하게는 110 내지 130℃, 더욱 바람직하게는 115 내지 125℃에서 1분 내지 20분, 바람직하게는 5분 내지 15분, 더욱 바람직하게는 7분 내지 12분간 열처리를 하여 양파 특유의 이취를 제거하는 과정일 수 있다.
- [0032] 상기 양파 발효대상액을 제조하는 단계는 불용성물질을 제거하는 단계를 추가로 수행할 수 있으며, 상기 불용성물질 제거단계는 상기 열처리하여 제조한 양파 발효대상액에 대해 원심분리기를 이용하여 수행할 수 있다. 상기 원심분리기를 이용하는 경우, 원심분리 조건은 8,000 내지 12,000xg, 바람직하게는 9,000xg 내지 11,000xg, 더욱 바람직하게는 9,500xg 내지 11,500xg 및 10분 내지 45분, 바람직하게는 20분 내지 40분, 더욱 바람직하게는 25분 내지 35분일 수 있다.
- [0033] 상기 양파 발효대상액에는 세균과 효모 등이 존재하여 유산발효를 저해하며, 제품의 품질을 저하시킬 수 있으므로, 상기 세균과 효모를 제거하기 위하여 상기 양파 발효대상액에 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주를 접종하는 단계 전에 살균단계를 추가로 수행할 수 있다.
- [0034] 상기 살균단계는 63 내지 65℃에서 약 30분간 살균하는 저온장시간 살균법(Low temperature long time, LTLT), 72 내지 75℃에서 15 내지 30초간 살균하는 고온단시간살균법(High temperature short time, HTST) 및 120 내지 150℃에서 1 내지 3초간 살균하는 초고온순간살균법(Ultra high temperature, UHT) 등으로 수행할 수 있으며, 원료의 갈변현상을 최소화하면서 오염세균을 최대한 살균시키기 위하여, 120 내지 130℃, 바람직하게는 121

℃에서 10 내지 20분, 바람직하게는 15분간 가열살균을 실시할 수 있다.

- [0035] 상기 양과 발효대상액에 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주를 접종하는 단계는 상기 양과 발효대상액에 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 균주를 접종 또는 첨가하는 방법으로 수행할 수 있다. 상기 균주의 접종 또는 첨가는 균주 자체를 접종하거나 균주의 배양액 또는 균주의 배양배지를 첨가하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0036] 상기 균주의 접종량은 양과 발효대상액을 기준으로 7.5×10^6 CFU/mL 내지 1.5×10^7 CFU/mL, 바람직하게는 0.8×10^7 CFU/mL 내지 1.25×10^7 CFU/mL, 더욱 바람직하게는 0.9×10^7 CFU/mL 내지 1.2×10^7 CFU/mL, 더더욱 바람직하게는 0.95×10^7 CFU/mL 내지 1.1×10^7 CFU/mL일 수 있다.
- [0037] 상기 균주가 접종된 양과 발효대상액을 발효시켜 양과 발효액을 제조하는 단계는 일정 조건에서 수행할 수 있다.
- [0038] 상기 발효의 온도 조건은 30 내지 45℃, 바람직하게는 33 내지 42℃, 더욱 바람직하게는 37 내지 40℃일 수 있고, 상기 발효의 pH 조건은 pH 5 내지 pH 6, 바람직하게는 pH 5.5 내지 pH 5.9일 수 있다. 상기 발효조건은 pH에 비하여 온도가 더 많은 부분에 영향을 미치는 것으로 확인되었다.
- [0039] 상기 양과 발효 음료 제조방법은 상기 양과 발효액을 제조하는 단계에 추가로 양과 발효액에 사과즙 및 구연산을 첨가하고 혼합하는 단계 및/또는 양과 발효액을 희석하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0040] 상기 양과 발효액에 사과즙 및 구연산을 첨가하고 혼합하는 단계는 바람직하게는 상기 양과 발효액에 사과즙 및 구연산을 첨가하고, 과당, 베타-사이클로덱스트린, 올리고당 및 사과향으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 더 첨가하고 혼합하는 단계 또는 사과즙, 과당, 베타-사이클로덱스트린, 올리고당, 사과향 및 구연산을 첨가하고 혼합하는 단계일 수 있다.
- [0041] 상기 과당, 베타-사이클로덱스트린, 올리고당 및 사과향으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 첨가하고 혼합하는 단계는 상기 발효액의 관능성 향상과 관련하여 상기 재료를 조합하여 첨가할 수 있다.
- [0042] 일 예로, 양과 발효액의 희석 및 첨가재료를 첨가하여 제조한 최종 양과 발효 음료의 구성성분의 함량은 중량을 기준으로, 양과 발효액 25 내지 31 중량비, 사과즙 25 내지 31 중량비, 과당 1.8 내지 4 중량비, 베타-사이클로덱스트린 1.35 내지 2 중량비, 올리고당 0.8 내지 1.0 중량비, 사과향 0.1 내지 0.3 중량비 및 구연산 0.08 내지 0.12 중량비일 수 있고, 바람직하게는 양과 발효액 27 내지 30 중량비, 사과즙 27 내지 30 중량비, 과당 2 내지 3.7 중량비, 베타-사이클로덱스트린 1.5 내지 1.86 중량비, 올리고당 0.9 내지 1 중량비, 사과향 0.15 내지 0.2 중량비 및 구연산 0.09 내지 0.1 중량비일 수 있다.
- [0043] 상기 양과 발효액의 희석은 상기 양과 발효액에 정제수를 첨가하고 혼합하는 방법으로 수행할 수 있으며, 발효액의 관능성 향상 및 발효액의 기능성 유지란 차원에서 상기 정제수를 중량비를 기준으로 상기 양과 발효액의 100 내지 175 중량비, 바람직하게는 125 내지 160 중량비 첨가할 수 있다.
- [0044] 일 예로, 양과 발효액의 희석 및 첨가재료를 첨가하여 제조한 최종 양과 발효 음료의 구성성분의 함량은 중량을 기준으로, 양과 발효액 27중량%, 사과즙 27 중량%, 과당 3.7 중량%, 베타-사이클로덱스트린 1.86 중량%, 올리고당 0.9 중량%, 사과향 0.2 중량%, 구연산 0.09 중량% 및 정제수 39.25 중량% 또는 양과 발효액 30 중량%, 사과즙 30 중량%, 과당 2 중량%, 베타-사이클로덱스트린 1.5 중량%, 올리고당 1 중량%, 사과향 0.15 중량%, 구연산 0.1 중량% 및 정제수 35.25 중량%일 수 있다.
- [0045] 상기 조성 및 함량으로 상기 양과 발효액에 사과즙과 구연산을 첨가한 경우, 바람직하게는 상기 양과 발효액에 사과즙, 구연산, 과당, 베타-사이클로덱스트린, 올리고당 및 사과향을 첨가하고 혼합하거나 상기 양과 발효액에 사과즙, 구연산, 과당, 베타-사이클로덱스트린, 올리고당 및 사과향을 첨가하고, 정제수를 첨가하여 혼합한 경우에는 양과 특유의 이취가 제어될 뿐만 아니라, 전체적인 기호도를 증가시켜 최종 제품인 양과 발효 음료의 섭취가 용이하게 함으로써, 본 발명이 의도한 양과의 기능성이 부여된 음료의 제공에 따른 양과의 새로운 수요 창출 및 고부가가치화를 유도할 수 있을 것이다.
- [0046] 상기 양과 발효 음료 제조방법은 상기 발효 과정을 수행한 후, 추가로 생성된 불용성 고형물을 제거하여, 최종 제품의 품질을 향상시키기 위해 여과지나 여과포 또는 부직포를 이용하여 여과하는 공정을 추가로 수행할 수 있다.
- [0047] 또한, 본 발명은 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 양과 발효 음료에 관한 것이다.

[0048] 본 발명에 따른 양파 발효 음료는 다양한 미네랄과 유기산을 포함하고 있어 영양학적으로 우수할 뿐만 아니라, 항균활성 및 항산화활성 등 다양한 생리활성을 유지함과 함께 다량의 유산균을 포함하고 있어, 유산균 발효식품이 갖는 유용성도 동시에 지니고 있어 고기능성이 인정된다.

효 과

[0049] 이상 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007(*Pediococcus pentosaceus* KC-007)은 그 자체가 항균활성 및 생리활성을 가질 뿐만 아니라, 양파의 발효능이 우수하고, 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007에 의해 발효된 양파 발효 음료의 경우 현저한 항균활성 및 항산화활성의 증가가 확인되어, 고기능성 및 고품질의 우수한 양파 발효 음료를 제조하기 위한 종균으로 사용될 수 있을 것이므로, 양파를 이용한 고기능성 음료의 제조를 포함한 양파와 관련된 다양한 제품의 생산에 이용될 수 있을 뿐만 아니라 국내에서 생산되는 농산물을 이용한 건강식품시장의 활성화와 우리나라 농산물의 새로운 수요 창출 및 고부가가치화를 유도한다는 점에서 산업적 이용가치가 매우 크다 할 것이다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0050] 이하 본 발명의 실시예를 기재한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0051] <실시예 1> 유산균주의 분리 및 동정

[0052] 1-1 유산균주의 분리

[0053] 각종 과일, 야채 및 전국 각 지역에서 수집된 김치로부터 유산균을 분리하기 위하여 상기 시료의 무게 10g을 측정 후, 상기 시료를 잘게 절단하고, 90ml의 Ringer's 용액을 첨가하여 homogenizer로 내용물 전체를 파쇄하였다. 이를 10진 희석법(serial dilution)에 의해 0.9% NaCl 용액에 희석하여, MRS 아가배지(MRS agar, Difco Co., France)에 도말하였다. 상기 도말한 아가배지(agar plate)는 37℃에서 3일간 배양한 다음, 투명환을 형성한 균주를 분리하여, 총 702주의 유산균을 분리하였다. 상기 분리된 702주의 균주 중에서, 산 생성능이 우수한 16주를 선정하여, 생리활성과 항균력을 측정하였다. 실험결과 산 생성능이 가장 우수하여, 양파 착즙액의 유산 발효능이 우수할 것으로 예상되며, 높은 생리활성을 지니고 있는 균주를 본 발명의 양파 발효 음료를 제조하기 위한 개시균주(starter strain)로 선정하였고, 이 균주를 KC 007로 명명하였다.

[0054] 상기 KC 007 균주에 대하여 형태학적 분석, 보다 구체적으로 광학현미경을 통한 형태의 분석, 그람 염색(Gram stain kit BD Co., USA), KOH시험, 운동성 테스트, 카탈라아제 시험(Biomrieux Co., France) 및 포자 염색을 수행하고, 포도당으로부터 가스를 생성하는지 여부를 측정하였으며, 그 결과를 표 1에 나타내었다.

표 1

특 성	KC-007
분리원	김치
형태(Morphology, Shape)	사구균
그람염색(Gram-stain) 여부	+
3% KOH 시험	-
운동성 시험	-
카탈라아제 시험(catalase test)	-
포자 염색	-
포도당으로부터 가스 생성	-

[0056] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 상기 분리균주인 KC-007은 사구균이고, 그람양성이며, 포자염색에서는 음성반응으로 무포자균임이 확인되었다. 또한, 카탈라아제 시험에서 음성 반응을 나타내어 잠정적으로 유산균으로 확인되었다. 또한, 포도당으로부터 가스를 생성하지 않아 정상 유산발효(homo lactic fermentation)을 하는 것으로 확인되었다.

[0057] 1-2 유산균주의 동정

[0058] 상기 실시예 1-1에서 잠정적으로 분리된 유산균인 KC-007은 API kit(50CHL, Biomrieux Co., France)을 이용한 생화학적 특성과 16S rDNA 염기서열 분석 결과를 통하여 동정하였다.

[0059] 상기 생화학적 특성에 대한 분석은 API 50CHL kit(Biomrieux Co., France)을 이용하여 당 대사능을 검토하여 수행하였으며, 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다. 하기 표 2에 기재된 +은 당 대사활성이 있는 경우를 의미하고, -는 당 대사활성이 없는 경우를 의미한다.

표 2

[0060]

당	반응	당	반응
Glycerol	-	D-Maltose	+
Erythritol	-	D-Lactose (bovine origin)	-
D-Arabinose	-	D-Melibiose	+
L-Arabinose	+	D-Saccharose (sucrose)	+
D-Ribose	+	D-Trehalose	+
D-Xylose	-	Inulin	-
L-Xylose	-	D-Melezitose	-
D-Adonitol	-	D-Raffinose	+
Methyl-β-D-Xylopyranoside	-	Amidon (starch)	-
D-Galactose	-	Glycogen	-
D-Glucose	+	Xylitol	-
D-Fructose	+	Gentiobiose	+
D-Mannose	+	D-Turanose	-
L-Sorbose	-	D-Lyxose	-
L-Rhamnose	+	D-Tagatose	+
Dulcitol	-	D-Fucose	-
Inositol	-	L-Fucose	-
D-Mannitol	-	D-Arabitol	-
D-Sorbitol	-	L-Arabitol	-
Methyl-α-D-Mannopyranoside	-	Potassium Gluconate	-
Methyl-α-D-Glucopyranoside	-	Potassium 2-Ketogluconate	-
N-Acetyl Glucosamine	+	Potassium 5-Ketogluconate	-
Amygdalin	+	Salicin	+
Arbutin	+	D-Cellobiose	+
Esculin ferric citrate	-		

[0061] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 상기 분리균주인 KC-007은 람노스(Rhamnose), 멜리바이오스(Melibiose), 라피노스(Raffinose), 수크로스(sucrose, D-Saccharose), L-아라비노스(L-Arabinose), 리보스(D-Ribose) 및 말토스(maltose) 등을 당 공급원으로 이용할 수 있고, 락토스(lactose), 갈락토스(galactose), 만니톨(mannitol) 및 이노시톨(inositol) 등을 당 공급원으로 이용할 수 없는 것으로 확인되었다.

[0062] 또한, 상기 분리균주인 KC-007에 대한 분자유전학적 특성에 의한 동정은 16S rRNA 유전자의 염기서열을 결정한 후, 분석을 통해 수행하였다. 구체적으로, Genome DNA kit을 이용하여 상기 분리균주 KC-007로부터 16S ribosomal RNA를 추출한 후, 하기 표 3에 기재된 프라이머 쌍을 이용하여 PCR을 수행함으로써 16S rRNA 염기서열 분석을 수행하여, 상기 분리균주 KC-007의 16S rRNA로 총 1472 bp의 염기서열을 결정하였으며, 그 결과를 도 1 및 서열번호 3에 나타내었다.

표 3

[0063]

Primers	서열 (5' → 3')	서열번호
8F	AGAGTTTGATCATGGCTCAG	1
15R	AAGGAGGTGATCCAACCGCA	2

[0064] 상기 수행한 염기서열을 기초로 염기서열의 검사는 3730 XL DNA sequencer(Applied Biosystems, USA)를 사용하

여 분석하였으며, CLUSTAL W2 program을 이용하여 각 균주의 상동성을 비교하였다.

[0065] 상기 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 결정된 서열을 GenBank의 블라스트 검색 데이터베이스(blast search database)를 이용하여 상동성 검색을 실시한 결과를 기초로 다른 세균과의 계통발생론적 관계를 도 2에 나타내었다. 상기 도 2에 나타난 바와 같이, 페디오코쿠스 펜토사세우스 MY-800, 페디오코쿠스 펜토사세우스 NRIC 0123 및 페디오코쿠스 펜토사세우스 ATCC 25745와 99.9%의 높은 상동성을 나타내어, 상기 KC-007 균주는 페디오코쿠스 펜토사세우스(*Pediococcus pentosaceus*)로 최종 동정되었다.

[0066] 상기한 바와 같이, 도 2는 분리균주 KC-007의 경우 페디오코쿠스 펜토사세우스로 최종 동정되었다는 것을 나타내며, 그 결과 KC-007을 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007로 명명하였고, 대한민국 서울특별시 서대문구 홍제1동 361-221번지 유림빌딩 2층에 위치한 한국미생물보존센터에 2009년 1월 28일자로 기탁하여, 수탁번호 KFCC 11439P를 부여 받았다.

[0067] 1-3 생육곡선

[0068] 상기 KC 007 균주를 MRS 배지에서 하룻밤 생육시킨 배양액을 최종농도가 2%(v/v)가 되도록 MRS 배지에 첨가한 후, 2시간 간격으로 배양액 100 μ L 취하였다. 상기 배양액을 MRS 한천 고체배지에 도말한 다음 37℃에서 하룻밤 배양하여 생균수를 측정하였으며, 그 결과를 기초로 생균수곡선을 작성하여 도 3에 나타내었다.

[0069] 상기 도 3에 나타난 바와 같이, 접종 후 4시간부터 대수 증식기가 시작되어 접종 후 7시간 후에 대수증식기가 종료되었으며, 이때의 생균수는 5.0×10^8 CFU/mL로 측정되었다. 일반적으로, 균의 생육이 가장 활성화되어 있고, 생균수가 가장 많은 대수증식기 종료 시점의 배양액을 접종하는 것이 바람직하므로, 상기 결과로부터 양과 발효대상액의 제조를 위해 첨가되는 상기 KC 007 균주는 생육곡선에서 대수증식기의 종료 시점에 해당되는 약 5.0×10^8 CFU/mL 정도로 배양된 균주를 사용하는 것으로 결정되었다.

[0070] <실시예 2> 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007를 이용한 양과 발효 음료의 제조

[0071] 2-1 양과 발효 음료의 제조

[0072] 양과의 껍질을 제거한 후, 세척하고 잘게 절단하여 녹즙기로 갈아 즙을 내어 양과즙을 제조한 후, 121℃에서 10분 열처리를 하였다. 상기 열처리한 양과즙을 10,000xg의 조건으로 30분간 원심분리하여 불용성물질을 제거하여, 양과 착즙액을 제조하였다.

[0073] 상기 양과 착즙액에 상기 실시예 1의 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007을 5.0×10^8 CFU/mL의 균수가 될 때까지 모배양을 실시한 후, 양과 착즙액에 총 균의 수가 각각 2.5×10^6 CFU/mL(0.5% v/v), 5.0×10^6 CFU/mL(1% v/v), 1×10^7 CFU/mL(2% v/v) 및 1.5×10^7 CFU/mL(3% v/v)가 되도록 접종한 후, 54시간 동안 발효를 수행하였다. 상기 v/v는 양과 착즙액 전체 부피를 기준으로 모배양액의 첨가부피를 표현한 부피비이다.

[0074] 상기 발효조건은 온도의 경우, 각각 25, 30, 35, 및 40℃에서 수행하였고, 상기 pH의 경우, 각각 pH 3, pH 4, pH 5, pH 6, pH 7 및 pH 8에서 수행하였다.

[0075] 상기 각각의 조건에서 제조된 양과 발효 음료에 대하여, 양과 발효 음료에 포함된 균주의 생육도, 양과 발효 음료의 산도 및 양과 발효 음료의 pH를 측정하여, 유산 발효능을 확인함으로써, 양과 발효 음료를 제조하기 위한 최적 조건을 결정하였다. 유산 발효능이 우수한 경우 즉, 유산 발효가 가장 많이 수행될 수 있는 조건이 양과 발효 음료를 제조하기 위한 최적 조건으로 결정되었다.

[0076] 2-2 발효 온도에 따른 최적 발효조건의 결정

[0077] 상기 발효조건 중 다른 조건은 동일하게 즉, 실시예 1의 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007을 1×10^7 CFU/mL(2% v/v) 접종한 후, pH를 조절하지 않고, 양과 착즙액의 자체 pH인 약 pH 5.7의 조건에서 발효 온도만을 변화시켜, 각각 25, 30, 35, 및 40℃에서 발효를 수행하여 유산 발효능 측정 결과를 확인하였으며, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

- [0078] 상기 도 4에 나타난 바와 같이, 40℃에서 발효시킨 양과 발효 음료의 생육도가 가장 높았고(도 4a), 다른 온도 조건에 비하여, 높은 산도를 유지한 반면(도 4b), 35℃와 함께 시료의 pH 변화가 가장 적은 것으로 확인되어(도 4c), 발효 온도로 40℃가 가장 적합한 것으로 확인되었다.
- [0079] 2-3 발효 pH에 따른 최적 발효조건의 결정
- [0080] 상기 발효조건 중 다른 조건은 동일하게 즉, 실시예 1의 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007을 1×10^7 CFU/mL(2% v/v) 접종한 후, 40℃의 조건에서 발효 pH만을 변화시켜, 각각 pH 3, pH 4, pH 5, pH 6, pH 7 및 pH 8에서 발효를 수행하여 유산 발효능 측정 결과를 확인하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다.
- [0081] 상기 도 5에 나타난 바와 같이, pH 3은 다른 시료구와 비교하여 유산균 생육이 저조한 것으로 나타나, 발효조건으로 부적합한 것으로 확인되었고, 그 외의 pH 범위에서는 pH에 따른 생육도가 시료간에 큰 차이를 나타내지 않는 것으로 확인되었다(도 5a). 또한, 산도변화와 관련하여, 초기 pH가 증가할수록 초기 산도는 감소하는 경향을 나타내었으나, 최종적으로는 비슷한 수준의 산도를 나타냈으며, 일 예로 pH 6의 경우 발효 초기에는 상당히 낮은 산도를 나타내었으나, 12시간부터 급격히 증가하여 18시간에는 pH 4의 산도와 대등한 값을 나타내는 것으로 확인되어 산도와 관련해서는 pH 조건이 큰 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다(도 5b). 또한, 24시간이 경과한 후에는 모든 시료구에서 pH가 pH 4 이하로 감소하는 것으로 확인되어(도 5c), 발효 pH는 유산 발효능에 영향을 미치는 정도가 작은 것으로 확인되었다. 전체적인 결과를 고려하면, pH 5 내지 pH 6이 최적 pH 조건인 것으로 판단되어, 양과 착즙액 자체의 pH인 약 pH 5.7가 유사한 조건에서 별도의 추가공정 없이 발효를 수행하는 것이 바람직할 것으로 예상되었다.
- [0082] 2-4 접종량에 따른 최적 발효조건의 결정
- [0083] 상기 실시예 1-3의 결과에 따라, 접종되는 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007는 대수증식기 종료 시점의 배양액을 사용하므로, 상기 접종되는 배양액에 포함된 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 양은 약 5.0×10^8 CFU/mL 이어서, 일 예로 상기 균주를 1×10^7 CFU/mL로 접종하기 위해서는, 상기 접종시키는 배양액의 양을 양과 발효 대상액에 최종 농도가 2%(v/v)가 되도록 접종하면 양과 발효대상액 내의 접종량은 0.95×10^7 CFU/mL 내지 1.1×10^7 CFU/mL 즉, 약 1×10^7 CFU/mL가 된다.
- [0084] 상기 발효조건 중 다른 조건은 동일하게 즉, pH를 조절하지 않고, 40℃에서 발효를 수행하였으며, 실시예 1의 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 접종량만을 변화시켜, 각각 2.5×10^6 CFU/mL(0.5% v/v), 5.0×10^6 CFU/mL(1% v/v), 1×10^7 CFU/mL(2% v/v) 및 1.5×10^7 CFU/mL(3% v/v)가 되도록 조절하여 54시간 동안 발효를 수행하여 유산 발효능 측정 결과를 확인하였으며, 그 결과를 도 6에 나타내었다.
- [0085] 상기 도 6에 나타난 바와 같이, 균주의 생육도와 관련하여, 1×10^7 CFU/mL(2% v/v)를 접종시킨 경우가 초기 6시간의 생육도가 가장 좋았으며, 그 다음으로 1.5×10^7 CFU/mL(3% v/v)가 우수한 것으로 확인되었다(도 6a). 발효액의 산도 변화와 관련하여, 발효 18시간까지는 5.0×10^6 CFU/mL(1% v/v) 및 1×10^7 CFU/mL(2% v/v)를 접종한 경우 높은 산 생성능을 보여주었고, 1.5×10^7 CFU/mL(3% v/v)는 가장 낮은 산 생성능을 나타내었다(도 6b). 접종량에 따른 pH 변화와 관련하여, 1×10^7 CFU/mL(2% v/v) 및 1.5×10^7 CFU/mL(3% v/v)를 접종하여 발효시킨 시료의 pH가 가장 급격하게 감소되어, 발효 12시간 이후에 pH 4 이하로 감소되었다(도 6c). 상기 결과로부터 유산발효를 위한 유산균의 최적 접종량은 1×10^7 CFU/mL(2% v/v)인 것으로 확인되었다.
- [0086] <실시예 3> 양과 발효 음료의 우수성 확인
- [0087] 상기 실시예 2에서 최적 조건으로 확인된 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007을 1×10^7 CFU/mL(2% v/v)만큼 접종한 후, 별도의 추가공정 없이 40℃에서 발효를 54시간 동안 수행하여, 양과 발효 음료를 제조하였다. 도 4 내지 도 6의 결과로부터 예상할 수 있는 바와 같이, 상기 조건에서 18시간 동안 배양한 결과 유산균 수, 산도

및 pH의 결과 값이 가장 우수한 것으로 확인되었고, 18시간 이상 반응시키는 경우, 유산균 수, 산도 및 pH의 결과값이 거의 변화가 없거나 바람직하게 변화되는 경향이 있었으므로, 상기 조건에서 최적 반응시간을 18시간으로 설정하였다. 상기 조건에서 최적 반응시간인 18시간 동안 발효를 수행하여, 양과 발효 음료를 제조하였다.

상기 제조된 양과 발효 음료의 우수성을 확인하기 위하여, 유기산 조성 측정과 생리활성 평가를 수행하였다.

3-1 양과 발효 음료의 유기산 조성

상시 제조한 양과 발효 음료의 유기산 분석을 하기 표 4의 조건으로 고성능 액체크로마토그래피로 분석하였다.

표 4

사용기기	Hewlett Packard 1100
분석 컬럼	Prevail organic acid 5u
검출기	Dual λ absorbance detector
유속	1.0 mL/분
시료 부피	10 μ L
이동상	25 mL 인산(phosphoric acid)용액

상기 표 4의 조건으로 수행한 고성능 액체크로마토그래피 분석 결과를 발효 전 양과 착즙액의 유기산 함량과 발효 후 양과 발효 음료의 유기산 함량을 비교하여 표 5에 나타내었다. 상기 표 5에서 ND 표시는 해당 유기산이 검출되지 않았음을 의미한다.

표 5

유기산	발효하지 않은 양과 착즙액		유산균으로 발효한 양과 발효 음료	
	함량(mg/100 g)	퍼센트(%)	함량(mg/100 g)	퍼센트(%)
사과산	176.94	77.1	ND	-
말론산	ND	-	58.87	8.65
유산	ND	-	583.52	85.73
초산	ND	-	ND	-
구연산	40.25	17.5	38.29	5.62
숙신산	11.81	5.1	ND	-
푸마르산	0.63	0.3	ND	-

상기 표 5에 나타난 바와 같이, 발효 전 양과 착즙액의 경우, 사과산(malic acid)의 함량이 가장 높아서 착즙액 100 g 당 176.94 mg이 존재하였고, 그 다음으로 구연산(citric acid)이 40.25 mg의 함량을 지니고 있었으며, 숙신산(succinic acid)은 소량 존재하였다. 한편, 유산균으로 발효한 양과 발효 음료는 유산의 함량이 283.52mg으로 발효 전의 양과 착즙액에서 발견되지 아니한 유산이 대량 생성되었고, 말론산도 생성된 반면, 사과산은 검출되지 아니하였다.

3-2 양과 발효 음료의 생리활성 평가

상시 제조한 양과 발효 음료의 항산화 활성 및 항균 활성을 측정하였다. 상기 항산화 활성은 전자공여작용 및 아질산염 소거작용을 측정함으로써 수행하였고, 항균 활성은 검정균주로 여러 가지 위해미생물에 대한 항균력 여부를 측정하는 방법으로 수행하였다.

상기 전자공여작용의 측정은 양과 발효 음료 0.5 mL에 4×10^{-4} M DPPH (α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl) 용액 (99.9%, 에탄올로 제조) 0.8 mL를 첨가한 후, 10초간 볼텍싱 믹서를 이용하여 진탕한 다음, 10분 후에 분광광도계를 사용하여 525 nm의 조건에서 흡광도를 측정하는 방법으로 수행하였으며, 측정된 흡광도를 이용하여 하기 수식식 1을 통하여 실험군(상기 양과 발효 음료)과 대조군(상기 발효하지 않은 양과 착즙액)의 전자공여능을 계산하였다.

수학식 1

$$\text{전자공여능 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{실험군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \right) \times 100$$

[0098]

[0099]

또한, 아질산염 소거작용은 1 mM NaNO₂ 용액 2 mL에 상기 양과 발효 음료를 1 mL 첨가하고 여기에 0.1 N HCl 용액(pH 1.2, pH 3.0 및 pH 4.2로 조정예 사용)과 0.2 M citric acid(pH 6.0 조정예 사용)를 사용하여 반응용액의 pH를 각각 pH 1.2, pH 3.0, pH 4.2 및 pH 6.0으로 조정한 다음, 반응 용액의 부피를 10 mL로 조절하였다.

[0100]

상기 부피를 조절한 반응액을 각각 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 반응용액을 제조하고, 상기 반응용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% acetic acid 5 mL를 첨가한 다음 Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% α-naphthylamine을 1:1비로 혼합한 것으로 사용 직전에 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시킨 다음, 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서의 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 측정하였다. 상기 측정된 아질산량으로부터 하기 수학식 2를 통하여 아질산염 소거율을 백분율로 계산하였다. 하기 수학식 2에서 A는 1 mM NaNO₂ 용액과 1시간 반응한 시료의 흡광도이고, B는 1 mM NaNO₂ 용액과 1시간 반응한 증류수의 흡광도이며, C는 본 발명의 양과 발효 음료 자체의 흡광도이다.

수학식 2

$$\text{아질산염 소거율 (\%)} = \left(1 - \frac{A-C}{B} \right) \times 100$$

[0101]

[0102]

또한, 본 발명에 따른 양과 발효 음료(실험군)의 항균활성은 식중독균인 대장균(*E. coli* 0157:H7), 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus* ATCC 14458), 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus* KCCM 11204), 엔테로박터 사카자키(*Enterobacter sakazakii* ATCC 51329) 및 리스테리아 모노사이토게네스(*Listeria monocytogenes* KCCM 40307)를 위해미생물에 대한 검정균주로 사용하였다. 항균활성은 상기 각각의 검정균주를 백금이를 이용하여 분리한 후, 5 mL의 액체배지에 접종하여 36시간 동안 배양하고, 상기 배양한 검정균주의 배양액 0.1 mL를 신선한 배지 5 mL를 함유한 시험관에 양과 발효 음료(실험군) 0.1 mL와 함께 혼합하여 37°C에서 24시간 배양한 후 표준평판배양법에 의하여 생균수를 측정하는 방법으로 수행하였다. 양과 발효 음료를 첨가하지 않은 검정균주의 배양액을 대조군으로 사용하였으며, 측정된 생균수를 이용한 항균활성의 계산은 하기 수학식 3에 따라 계산하였다.

수학식 3

$$\text{항균력 (\%)} = \left(1 - \frac{\log \text{실험군의 생균수}}{\log \text{대조군의 생균수}} \right) \times 100$$

[0103]

[0104]

상기 각각의 실험결과를 하기 표 6에 나타내었다. 하기 표 6의 1)은 각각 활성의 평균±표준편차를 나타낸 것이다.

표 6

[0105]

생리활성		발효하지 않은 양과 착즙액	유산균으로 발효한 양과 발효액
전자공여능		83.99±1.49 ¹⁾ %	95.74±0.62%
아질산염 소거 작용	pH 1.2	23.77±1.32%	68.69±2.22%
	pH 3.0	23.02±1.06%	33.61±0.62%
	pH 4.2	16.05±2.18±	35.66±0.66%
	pH 6.0	0.83±1.20%	5.04±1.14%

항균활성	대장균	7.94±0.43%	11.26±0.39%
	스테빌로코커스 아우레우스	2.97±0.54%	18.66±0.47%
	바실러스 세레우스	2.24±0.53%	5.23±0.21%
	엔테로박터 사카자키	0.59±0.08%	0.37±0.06%
	리스테리아 모노사이토게네스	0.87±0.18%	7.40±0.52%

[0106] 상기 표 6에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 양과 발효 음료는 95.7%의 높은 전자공여능을 나타내었고, 발효 전에 비하여 약 12% 이상의 전자공여능이 개선되었음이 확인되었다. 또한, 아질산염 소거기능과 관련하여, pH 1.2의 조건에서 68.72%로 가장 높은 소거율을 나타내었고, pH 3.0에서는 33.94%, pH 4.2에서는 35.00% 및 pH 6.0에서는 4.23%로 pH가 증가할수록 소거율이 크게 감소하여 pH 의존적인 경향을 나타내었으며, 전체적으로 발효 전에 비하여 약 50% 내지 500% 이상의 아질산염 소거율의 증가를 확인할 수 있었다. 상기한 결과로부터, 양과 발효 음료는 우수한 항산화활성이 인정될 뿐만 아니라, 발효에 의하여 발효 전 양과 착즙액과 비교하여 현저하게 상승된 항산화활성을 가지는 것으로 확인되었다.

[0107] 또한, 본 발명에 따른 양과 발효 음료의 항균활성을 측정한 결과를 확인하면, 스테빌로코커스 아우레우스에 대해서는 18.66%의 생육 저하율을 나타내 가장 높은 항균력을 보였으며, 대장균과 리스테리아 모노사이토게네스에 대해서는 각각 11.71%, 7.08%의 생육저해효과를 나타내었고, 바실러스 세레우스에 대해서는 5.03%의 생육 저해효과를 나타내었다. 전체적으로 발효 과정에 의하여 현저하게 항균활성이 증가되었는 바, 리스테리아 모노사이토게네스의 경우 약 8.5배의 항균력이 증가하였고, 스테빌로코커스 아우레우스의 경우 약 6배 정도의 항균력이 증가하였으며, 바실러스 세레우스와 대장균에 대해서도 약 50% 이상의 항균력이 증가된 것을 확인할 수 있었다. 상기한 결과로부터, 양과 발효 음료는 우수한 항균활성이 인정될 뿐만 아니라, 발효에 의하여 발효 전 양과 착즙액과 비교하여 현저하게 상승된 항균활성을 가지는 것으로 확인되었다.

[0108] 상기한 바와 같이, 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007은 GRAS 등급의 안전한 미생물로서 그 자체가 항균활성 및 생리활성을 가질 뿐만 아니라, 양과의 발효능이 우수하고, 상기 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007에 의해 발효된 양과 발효 음료의 경우 현저한 항균활성 및 항산화활성의 증가가 확인되어, 고기능성 및 고품질의 우수한 양과 발효 음료를 제조하기 위한 종균으로 사용될 수 있을 것이므로, 양과의 새로운 이용방법인 유산균을 이용한 양과 발효 음료를 제안하여 국내에서 생산되는 농산물을 이용한 건강식품시장의 활성화에 많은 도움이 될 수 있을 것으로 예상된다.

[0109] <실시예 4> 양과 발효 음료의 기호도 향상

[0110] 상기 실시예 3에서 기능성이 우수한 것으로 확인된 양과 발효 음료의 경우, 양과 자체의 이취미를 최소화하기는 하였으나, 제품화를 위해서는 상기 양과 발효 음료의 기능성을 최대한 유지하면서, 상기 양과 발효 음료에서 양과 특유의 이취미를 제한하여 기호도를 향상시키는 것이 요구된다.

[0111] 4-1 최적 유기산의 선정

[0112] 상기 양과 발효 음료에 남아 있는 양과 특유의 미취를 저감할 목적으로 위하여 첨가될 유기산 중에서 최적의 유기산을 선정하기 위하여, 초산(acetic acid), 구연산(citric acid) 및 주석산(tartaric acid)을 사용하여 일정 농도의 유기산 용액을 제조하였다. 양과 100 g을 8등분한 후, 상기 제조한 유기산 용액에 상기 등분한 양과를 넣고 실온에서 일정 시간 동안 침지하였다. 그 후 양과를 유기산 용액으로부터 회수하여, 수돗물로 세척한 다음, 착즙하여 관능평가를 실시하여 탈취효과를 분석하였다. 이때 관능평가는 착즙액의 향을 5점 척도법으로 평가하였고 수치가 클수록 양과의 향이 강한 것으로 하였으며, 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다. 하기 표 7에서 양과란 유기산을 전혀 처리하지 않을 것을 의미한다.

표 7

유기산	침지시간 (시간)		
	24	48	72
양과	5.00±0.00 ^{ca}	5.00±0.00 ^{ba}	5.00±0.00 ^{da}

초산	3.50 ± 0.89^{bB}	2.60 ± 0.75^{aA}	3.00 ± 0.86^{bB}
구연산	2.20 ± 1.01^{aA}	2.15 ± 1.14^{aA}	2.60 ± 0.94^{bA}
주석산	3.10 ± 0.97^{bA}	2.50 ± 0.95^{aA}	4.05 ± 1.05^{cB}

[0114] 상기 표 7에 나타난 바와 같이, 유기산 침지를 하지 않은 양파는 관능평가에서 가장 높은 점수를 받아 양파취가 가장 강한 것으로 나타났으며, 6종의 유기산 모두 24시간 침지하였을 때에도 탈취효과를 나타내어, 탈취효과가 있는 것으로 인정되었다. 보다 상세하게는, 초산은 3.50으로 유의적으로 양파 향이 많이 남아 있었다. 한편 양파를 유기산 용액에 72시간 침지하였을 경우에는 구연산 용액이 유의적으로 가장 탈취효과가 좋은 것으로 확인되었다. 침지시간에 따른 탈취효과를 보면 24시간 침지한 경우 보다 48시간 침지한 경우 탈취효과가 향상되었으나, 72시간 침지한 경우 탈취효과가 오히려 감소하여, 48시간 침지하는 것이 가장 바람직한 것으로 확인되었다. 특히, 구연산의 경우 다른 산에 비하여, 구매단가도 가장 낮고, 탈취효과도 우수하여 산업적으로 적용하기 가장 바람직한 것으로 확인되었다.

[0115] 4-2 유기산의 최적 농도 확인

[0116] 상기 구연산이 사용될 최적 농도를 확인하기 위하여, 구연산 용액을 0.1, 0.5, 1.0, 2.0%(w/v)의 농도로 조제한 후 양파를 침지시켜 구연산 농도에 따른 양파 탈취효과를 상기 실시예 4-1의 탈취효과 분석을 위한 관능평가 방법으로 실시하였으며, 그 결과를 하기 표 8에 나타내었다.

표 8

구연산 농도 (%)	양파취
0.1	3.20 ± 1.28^b
0.5	3.15 ± 0.88^b
1.0	2.55 ± 1.19^{ab}
2.0	2.25 ± 1.21^a
3.0	2.23 ± 1.14^a

[0118] 상기 표 8에 나타난 바와 같이, 구연산의 농도가 높을수록 탈취효과가 높은 것으로 나타났으나, 2.0% 이상의 농도에서는 탈취 효과의 유의적 변화가 없어, 2.0%(w/v)가 가장 적당한 것으로 확인되었다.

[0119] 4-3 조성물 함량의 확인

[0120] 상기 양파 발효 음료에 남아 있는 양파 특유의 미취를 저감할 목적으로 위하여 같이 혼합될 다른 채소즙 또는 과일즙을 우리나라 농가에서 주로 재배되는 당근, 고구마, 배, 포도, 귤 및 사과 유기산 중에서 검토한 결과, 사과를 혼합하는 경우 양파취를 최대한 저감할 뿐만 아니라 양파의 향 및 맛과 적절하게 조화되는 것으로 확인되어, 사과즙을 사용하는 것을 확인되었다. 상기 사과즙은 통상의 과일즙을 제조하는 방법과 같이, 사과를 박피한 후 세척하거나 또는 껍질과 함께 세척하고 적당한 크기로 절단한 후, 분쇄기로 분쇄하고, 부직포 등을 이용하여 착즙하는 방법으로 제조하였다.

[0121] 상기 구연산 및 사과즙과 함께, 사과향과 베타-사이클로덱스트린, 올리고당 및 과당을 첨가하여 최종 제품을 제조하였고, 상기 제품의 조성 중, 양파 발효액과 사과즙의 함량을 달리하여, 관능평가를 통해 최적 조성비를 측정하였다.

[0122] 보다 상세하게는, 상기 사과즙, 올리고당 및 액상과당은 CJ Food Inc에서 구입하였고, 상기 베타 사이클로 덱스트린은 BK Bio Co에서 구입하였으며, 상기 사과향은 JEY'S F.I. Inc.에서 구입하여 사용하였다. 상기 실험은 상기 실시예 3 및 실시예 4에서 제조된 각각의 재료를 하기 표 9의 구성으로 실험 전일 혼합하여 제조하였다. 상기 표 9의 조성에서 각 수치는 중량을 기준으로 한 %를 의미하고, 상기 남은 함량은 정제수의 양을 의미한다.

상기 제조된 제품을 4℃ 냉장고에서 보관하였다가, 실험 10분전에 냉장고에서 꺼내 얼음을 담은 아이스박스에 보관하면서, 검사 직전에 일회용 플라스틱 용기(직경 4.5cm, 높이 5.5cm)에 약 30ml씩 담아 평가 시 온도가 5.5 ± 1℃가 되도록 준비하였다. 각 시료의 용기에는 난수표에서 선택한 세 자리 숫자를 표시하였고, 제시 순서는 Microsoft Office Excel 2007(Microsoft Inc., USA) 이용하여 랜덤하게 제시하였다. 관능평가에서 시료와 시료 사이에 입을 행굴 수 있도록 정수된 물(20 ± 2℃)과 빨는 컵을 함께 제공하여 시료를 평가하기 전에 시료의 강한 특성에 따른 전 시료와의 혼란과 감각의 둔화를 줄이기 위해, 3회 충분한 입 행굴을 하도록 하였다.

표 9

No	양과	사과즙	과당	베타-사이클로덱스트린	올리고당	사과향
1	15	20	2	1.5	1	0.15
2	20	20	2	1.5	1	0.15
3	20	30	2	1.5	1	0.15
4	30	30	2	1.5	1	0.15

관능평가는 이화여자대학교 아산 공학관 학생 휴게실에서 1:1 면접 방식으로 실시하였으며, 전반적인 기호도, 단맛의 정도, 사과 향미의 정도, 양과 향미의 정도 순으로 평가하였다. 전반적인 기호도는 10점 척도의 Rank-rating scale를 사용하여 1점은 ‘매우 좋지 않다’, 10은 ‘매우 좋다’로 평가하였고, 단맛의 정도와 사과 향미의 정도 및 양과 향미의 정도는 11점 척도의 Just about right scale을 사용하였으며 각 항목의 특성강도가 적당한 것은 척도 중간의 Just about right로 특성 강도가 약한 것을 Much Too Weak로, 특성 강도가 강한 것을 Much too strong으로 평가하였다. 먼저, 전반적인 기호도 평가에서는 입행굴을 하면서 세 가지 시료를 다 맛본 후, 전반적인 기호도가 높은 순으로 점수를 매겨 해당하는 칸에 시료의 번호를 적도록 하였으며, 한 칸에 하나의 시료 번호만을 쓰도록 하였다. 전반적인 기호도를 평가한 후 5분정도 휴식 시간을 갖고 다음의 3가지 항목에 대해 평가하도록 하였는데, 제시되는 시료를 왼쪽의 시료부터 평가하도록 하였으며, 한 시료에 대한 단맛의 정도, 사과 향미의 정도, 양과 향미의 정도를 한 번에 평가하는 Monadic 평가 절차를 사용하였으며, 전반적인 기호도에 대한 측정치를 하기 표 10에 나타내었다. 상기 평가된 결과는 시료간의 전반적인 기호도에 대한 유의적 차이를 검증하기 위하여 분산 분석(analysis of variance, ANOVA)을 수행하였으며, 그 결과에 따라 Duncan's multiple range test($\alpha=0.05$)를 수행하였다. 단맛의 정도, 사과 향미의 정도, 양과 향미의 정도는 Just about right는 0점으로, Much Too Weak는 -5점, Much Too Strong은 +5점으로 환산하여 시료간의 평균값을 계산하였다. 통계 분석에는 SPSS for Windows 14.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다.

표 10

No	1	2	3	4
평가값	5.63 ^b	5.09 ^b	6.98 ^a	7.31 ^a

상기 표 10에 나타난 바와 같이, 발효 양과 착즙액의 양과 사과즙의 양을 다르게 하여 실험한 결과, 전반적인 기호도 면에서 4번 시료가 가장 우수한 것으로 나타났으며, 본 음료의 기능성이란 측면에서 양과 발효액이 가장 많이 포함된 4번에서 양과 향미에 관한 측정치는 약간 높게 나왔으나, 전체적인 기호도 강하게 나와 가장 우수한 것으로 확인되었다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 16S rRNA의 염기서열이다.

도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 염기서열을 기초로 한 다른 세균(bacteria)과의 계통발생론적 관계를 나타내는 그림이다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 생균수를 측정하여 생육곡선을 나타내는 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007를 이용하여 양과 착즙액을 발효시켜 발효액을 제조함에 있어서, 발효온도가 미치는 영향을 나타낸 것으로, 도 4a는 발효온도에 따른 페디오코쿠스 펜토

사세우스 KC-007의 생육도를 나타낸 그래프이고, 도 4b는 발효온도에 따른 발효액의 산도 변화를 나타낸 그래프이며, 도 4c는 발효온도에 따른 발효액의 pH 변화를 나타낸 그래프이다.

[0131] 도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007를 이용하여 양과 착즙액을 발효시켜 발효액을 제조함에 있어서, 착즙액의 pH가 미치는 영향을 나타낸 것으로, 도 5a는 착즙액의 pH에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 생육도를 나타낸 그래프이고, 도 5b는 착즙액의 pH에 따른 발효액의 산도 변화를 나타낸 그래프이며, 도 5c는 착즙액의 pH에 따른 발효액의 pH 변화를 나타낸 그래프이다.

[0132] 도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007를 이용하여 양과 착즙액을 발효시켜 발효액을 제조함에 있어서, 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 접종량이 미치는 영향을 나타낸 것으로, 도 6a는 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 접종량에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 생육도를 나타낸 그래프이고, 도 6b는 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 접종량에 따른 발효액의 산도 변화를 나타낸 그래프이며, 도 6c는 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007의 접종량에 따른 발효액의 pH 변화를 나타낸 그래프이다.

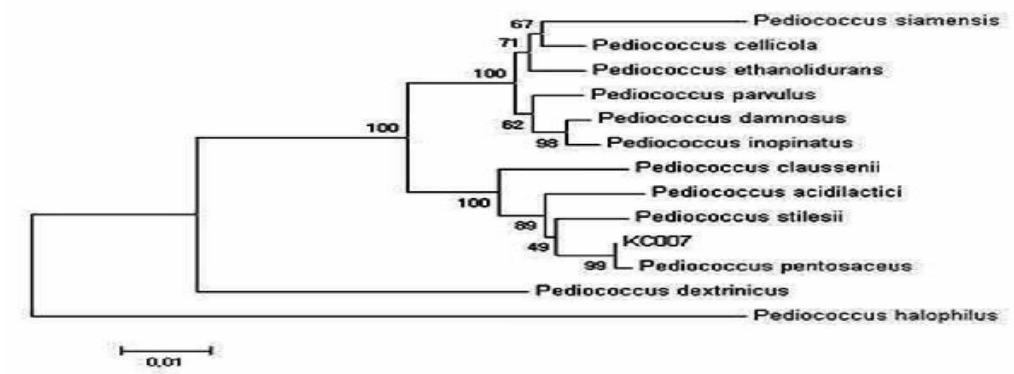
[0133] 도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 페디오코쿠스 펜토사세우스 KC-007 및 양과 착즙액을 이용하여 양과 발효음료를 제조하는 제조공정을 나타낸 순서도이다.

도면

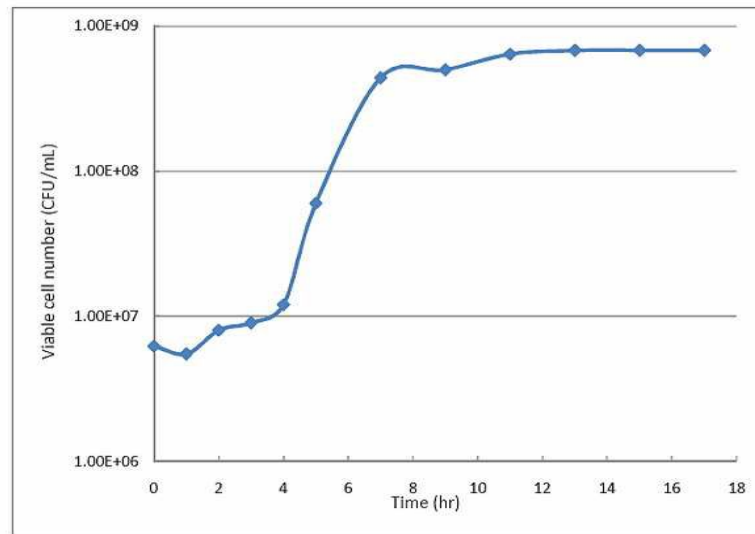
도면1

```
TCATGCAAGTCGAACGAACCTTCOGTTAATTGATTATGAOCTACTTGTACTGATTGAGATTTTAAACAGAGTGAGTGGGAAACGGGTGAG
TAACAOGTGGGTAAOCTGCCAGAGTAGGGGATAACAOTGGAAACAGATGCTAATACOGTATAACAGAGAAAACOGCATGTTTCTT
TTAAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGATGGACCGGGGCTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCACCAGGCAGTGATACGTA
GCGAAGTCTGATGGAGCAAOGCGOGTGAGTGAAGAAGGGTTTGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAAGTGGGTAAAGAGTAAC
TGTTTACCCAGTGACGGTATTTAOCAGAAAACCCAGGCTAACTAOGTGCCAGCAGCGCGGTAAACGTAGGTGGCAAGCGTTATCOGG
ATTTATTTGGGCTAAAGOGAGCGCAGGCGGTCTTTAAGTCTAATGTGAAAAGCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATTGGAAACTGGGA
GACTTGAGTGCAGAAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGOGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGTGT
CTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGGAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCATGCGGTAAACGATGATTACTA
AGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAAAGCATTAAAGTAAATCOGCTGGGAGTACGACGCAAGGTGAAACTCAAAG
AATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGGAAGCTAOCGAAGAACCTTAOCAGGTCTTGACATCTTCTGACAG
TCTAAGAGATTAGAGGTTCCCTTCGGGACAGAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTGTCAGCTCGTGTGTCGATGTTGGGTTAAGTCC
CGCAAGAGCGCAACCTTATTACTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACCTAGTGAGACTGCGGTGACAAAACGGAGGAAGGTGGGA
CGAOGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGTACACAGTGTACAAATGGATGGTACAACGAGTCGGGAGACOGGAGGTAAAGCT
AATCTCTTAAACCATCTCAGTTOGGACTGTAGGCTGCAACTCGOCTACACGAAGTGGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCGG
CGGTGAATACGTTCCGGGCTTGTACACACGCGGTCACCATGAGAGTTTGTAAACCCAAAGCGGTGGGTAACTTTTAGGAG
CTAGCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGG
```

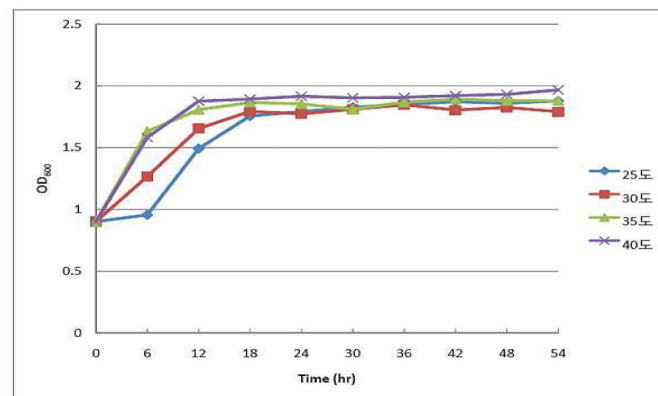
도면2



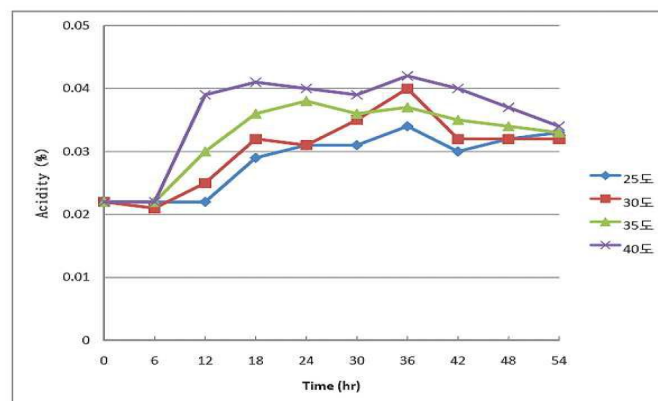
도면3



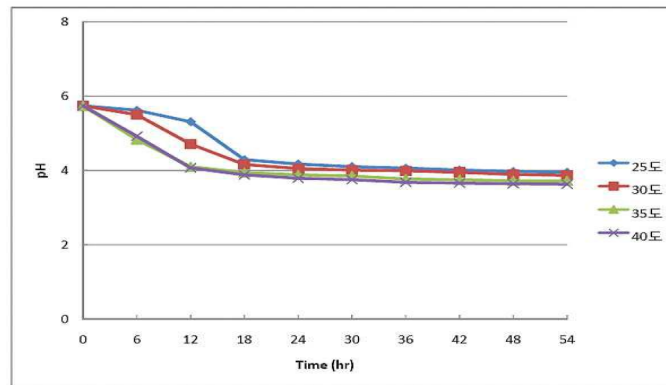
도면4a



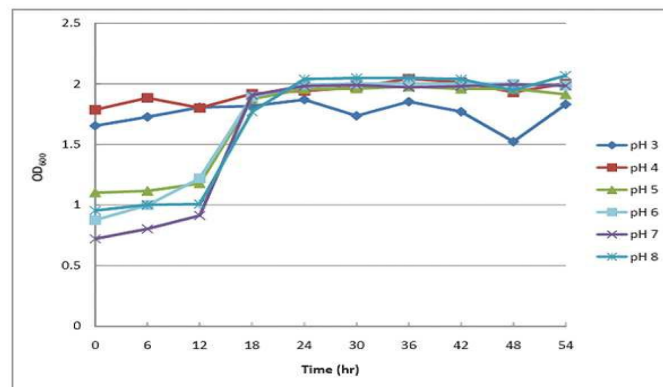
도면4b



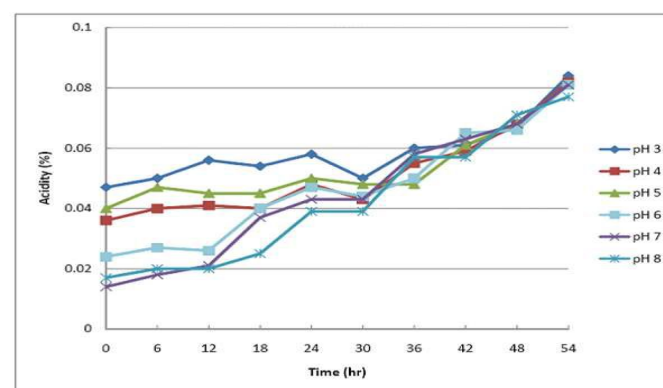
도면4c



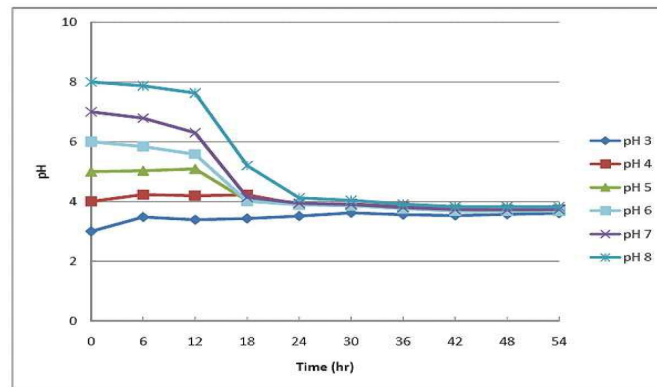
도면5a



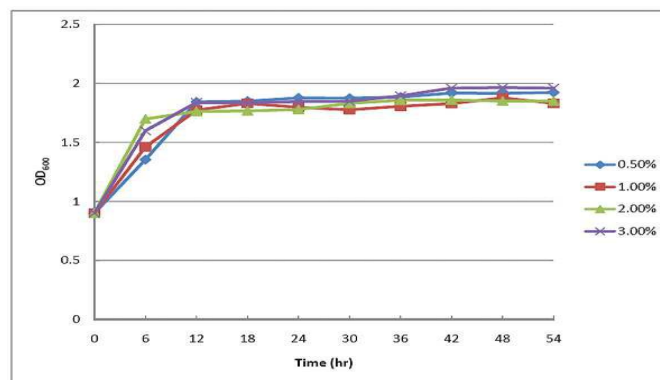
도면5b



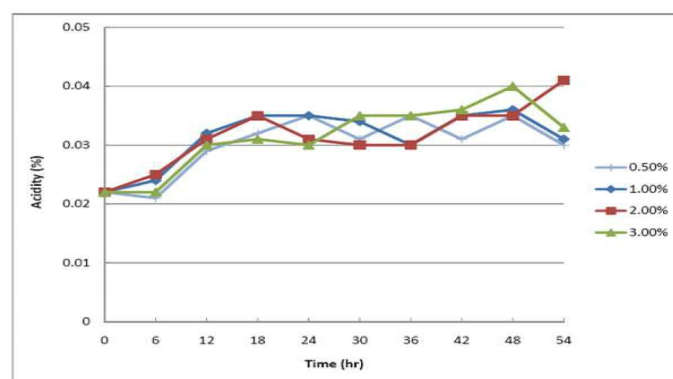
도면5c



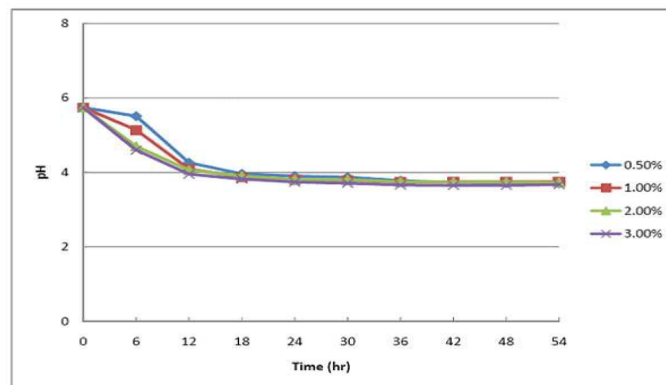
도면6a



도면6b



도면6c



도면7



<110> KYOUNGWON UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION
 <120> A NOVEL LACTIC ACID BACTERIUM AND A METHOD OF PREPARING FOR ONION
 BEVERAGE FERMENTED BY THE SAME

<130> KP20090065

<160> 3

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 8F

<400> 1
 agagtttgat catggctcag 20

<210> 2
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 15R

<400> 2
 aaggaggtga tccaaccgca 20

<210> 3
 <211> 1472
 <212> DNA
 <213> Pediococcus sp. KC-007 16SrRNA

<400> 3
 tcatgcaagt cgaacgaact tccgttaatt gattatgacg tacttggtact gattgagatt 60

ttaacacgaa gtgagtggcg aacgggtgag taacacgtgg gtaacctgcc cagaagtagg	120
ggataacacc tggaacaga tgctaatacc gtataacaga gaaaaccgca tggttttctt	180
ttaaaagatg gccttgctat cacttctgga tggaccgcg gcgtattagc tagttggtag	240
ggtaaaggct caccaaggca gtgatacgt gccgacctga gagggtaatc ggccacattg	300
ggactgagac acggcccgca ctctacggg aggcagcagt agggaaatctt ccacaatgga	360
cgcaagtctg atggagcaac gccgcgtgag tgaagaaggg tttcggctcg taaagctctg	420
ttgttaaaga agaactggg taagagtaac tgtttaccca gtgacggtat ttaaccagaa	480
agccacggct aactacgtgc cagcagccgc ggtaatacgt aggtggcaag cgttatccgg	540
atttatggg cgtaaagcga gcgcaggcgg tcttttaagt ctaatgtgaa agccttcggc	600
tcaaccgaag aagtgcattg gaaactggga gacttgagtg cagaagagga cagtggaact	660
ccatgtgtag cggtagaatg cgtagatata tggaagaaca ccagtggcga aggcggctgt	720
ctggtctgca actgacgtg aggcctgaaa gcatgggtag cgaacaggat tagataccct	780
ggtagtccat gccgtaaacg atgattacta agtgttgag ggtttccgc cttcagtgt	840
gcagctaacg cattaagtaa tccgcctggg gactacgacc gcaaggtga aactcaaag	900
aattgacggg ggcccgaca agcgttgag catgtggtt aattcgaagc tacgcaaga	960
accttaccag gtcttgacat cttctgacag tctaagagat tagaggttcc cttcggggac	1020
agaatgacag gtggtgcatg gttgtcgtca gtcgtgtcg tgagatgtg ggtaagtcc	1080
cgcaacgagc gcaaccctta ttactagtgt ccagcattaa gttgggcaact ctagtgagac	1140
tgccggtgac aaaccggagg aagggtggga cgactcaaa tcatcatgcc cttatgacc	1200
tggtgtacac acgtgtaca atggatggta caacgagtcg cgagaccgcg aggttaagct	1260

aatctcttaa aaccattctc agttcggact gtaggctgca actcgcctac acgaagtcgg	1320
aatcgctagt aatcgcggat cagcatgccg cggatgaatac gttcccgggc cttgtacaca	1380
ccgccctca caccatgaga gtttgaaca cccaagccg gtggggtaac cttttaggag	1440
ctagccgtct aaggtagggac agatgattag gg	1472