



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0078999
(43) 공개일자 2010년07월08일

(51) Int. Cl.

C12P 19/04 (2006.01) *C12N 1/20* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0137396

(22) 출원일자 2008년12월30일

심사청구일자 2008년12월30일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

김세현

서울특별시 강남구 청담동 삼익아파트 14동 1002호

김영훈

경기도 남양주시 도농동 2-1 부영그린타운 203-1401

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

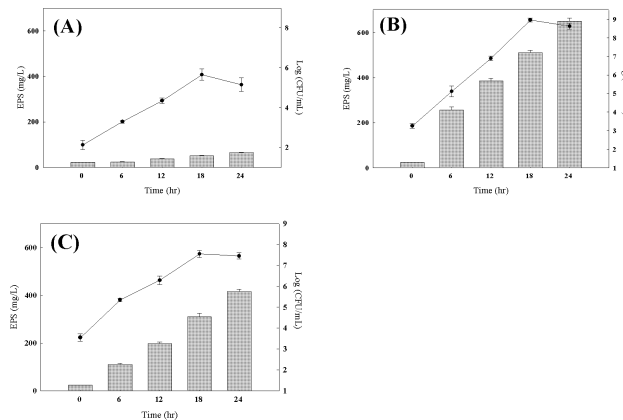
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 세포외 다당질의 생산 방법

(57) 요약

본 발명은 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*)를 특정 조건에서 배양하고, 그에 따라 생성된 세포외다당질을 수득하는 것을 포함하는 세포외다당질의 생산 방법을 제공한다. 본 발명의 생산 방법에 따르면, 락토바실러스 람노서스의 배양 조건의 조절을 통해 효율적으로 많은 양의 세포외다당질을 생산할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김지욱

서울특별시 강서구 화곡6동 961-20호

오세중

서울특별시 용산구 이촌1동 동부센트레빌 104-1102

박희규

경기 용인시 수지구 상현1동 수지현대센트럴

I'park 104동 1401호

김영준

서울특별시 강남구 도곡동 963 41동 1반 역삼럭키

아파트 104동 302호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 200801010812470010300

부처명 농촌진흥청

연구사업명 농업과학기술개발공동연구사업

연구과제명 [1차년도]기능성 영양물질 강화 한우 고급육 생산 기술개발

주관기관 한국방송통신대학교

연구기간 2008년 03월 01일 ~ 2008년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

락토바실러스 람노서스를 pH 5 내지 6의 배지에서 배양하고,
그에 따라 생성된 세포외다당질을 수득하는 것을 포함하는
세포외다당질의 생산 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 락토바실러스 람노서스의 배양은 35 내지 39℃의 온도에서 수행되는 것을 특징으로 하는
세포외다당질의 생산 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,
상기 락토바실러스 람노서스의 배양은 EPS-저생산 균주와의 공배양인 것을 특징으로 하는
세포외다당질의 생산 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 락토바실러스 람노서스는 락토바실러스 람노서스 ATCC9595인 (*Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9595)
세포외다당질의 생산 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,
상기 EPS-저생산 균주는 락토바실러스 람노서스 GG인
세포외다당질의 생산 방법.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 배지는 WPC(Whey Protein Concentration)을 포함하는 것인
세포외다당질의 생산 방법.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 WPC의 농도는 0.5 내지 1.0%인
세포외다당질의 생산 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 락토바실러스 람노시스 ATCC 9595를 배양하고, 그에 따라 생성된 세포외다당질을 수득하는 것을 포함하는 세포외다당질의 생산 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 오늘날 식품 산업에 이용되는 대부분의 천연증점제(biothickener)들은 식물(예컨대, 녹말, 펙틴, 로커스트빈검, 구아검 등) 또는 해초(예컨대, 카라기난, 알지네이트 등)로부터 나오는 다당류이다. 또한 젤라틴이나 카세인과 같은 동물성 천연증점제도 식품 산업에 이용된다. 그러나, 이러한 다당류들은 요구되는 품질로 항상 쉽게 이용할 수는 없으며 정확한 유동학적 특성을 갖지 않을 수 있다(Roller S, Dea, ICM. Crit. Rev. Biotechnol. 12: 261-277 (1992)). 식품 산업에 이용되는 대부분의 식물 탄수화물들은 그들의 구조 향상과 유동학적 특성을 위해 화학적으로 변형된 것들이다(Tomb M, Harding SE. London 185-205(1998)). 따라서 이들의 이용은 매우 제한적이다. 유제품 산업, 특히 유럽의 요구르트 산업에서 안정화제(stabilizer)의 첨가가 금지되었고, 음식물은 E-number로 표시되어야 한다. 그러므로 미생물의 세포외다당류는 천연증점제의 대체물로서 고려될 수 있을 것이다.

[0003] 최근 젖산균(lactic acid bacteria, LAB)의 일차 대사물 중 하나인 세포외다당류(exopolysaccharide, EPS)에 대한 관심이 높아지고 있다(Welman AD, Maddox IS. Trends in Biotechnology 21: 269-274 (2003)). EPS는 증점 특성을 갖고 있고, 또한 씹히는 느낌과 입맛을 향상시키는 것으로 나타났다. 게다가 LAB으로부터 생산된 EPS의 건강상 이점과 관련된 몇몇 연구들이 있다. Kitazawa 등은 EPS가 인간에게 생리학적으로 유익한 다양한 효과들이 있다고 주장했다(Kitazawa H, et al., J. Dairy Sci. 76: 1514-1519 (1993)). 이러한 특성들에 기초하여, 몇몇 LAB에서 유래한 EPS는 음식물의 천연 첨가제로서 실제 이용되며, 안정화제, 증점제, 겔화제, 수결합제(De Vuyst L, Degeest B. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2863-2870 (1999), Kim JU, et al., J. Microbiol. Biotechnol. 16: 939-945 (2006))로서 화학적, 식물성, 동물성 첨가제의 대체물이 되고 있다.

[0004] 그러나 불행히도 LAB으로부터 생산되는 EPS의 양은 일반적으로 매우 적다. 최근, LAB 균주의 선택과 EPS 생산을 높이기 위한 최적의 배양조건을 찾으려는 많은 노력이 있다. 또한 다른 배양 환경을 적용하거나 새로운 박테리아 균주를 이용하여, 특정 용도에 적합하거나 산업적 이용에 적절한 새로운 EPS를 찾는 데에 상당한 관심이 있다. 성장 배지의 조성은 탄소원, 배지 조성, 온도, pH를 바꾸는 것을 통해 이루어질 것이다(Degeest B, de Vuyst L. Appl. Environ. Microbiol. 66: 3519-3527 (2000)). 이러한 인자들 중에 카세인 가수분해물의 존재, 공-배양 시스템, 글루코스의 양이 고려되고 있다.(Cerning J, et al., J. Dairy Sci. 75: 692-699 (1992))

[0005] 락토바실러스 람노시스를 포함하는 락토바실러스 균주(*L. casei* group에 속함)는 발효 식품 생산을 위한 부가 배양물로서 최근 중요해지고 있다.(Lee NK, et al., Food Sci. Biotechnol. 15: 227-231 (2006), Lee JH, et al. Food Sci. Biotechnol. 15: 877-883 (2006), Park KB, Oh SH. Food Sci. Biotechnol. 15: 86-90 (2006)) 그러나 다른 LAB들과의 비교를 포함하여, 이러한 균주들에 의한 EPS 생산에 대한 연구가 거의 없다. 최근, 본 발명자들은 높은 수준의 EPS 생산 LAB 중의 하나인 *L. rhamnosus* ATCC 9595에 의해 생산된 EPS의 특성화와 정제에 대하여 보고한 바 있다(Kim JU, et al., J. Microbiol. Biotechnol. 16: 939-945 (2006)).

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0006] 본 발명은 락토바실러스 람노서스에 의한 EPS 생산에 있어서의, 최적의 배양 조건을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결수단

[0007] 상기 과제의 해결을 위해,

[0008] 본 발명은 락토바실러스 람노서스를 pH 5 내지 6의 배지에서 배양하고, 그에 따라 생성된 세포외다당질을 수득하는 것을 포함하는 세포외다당질의 생산 방법을 제공한다.

[0009] 본 발명은 또한 상기 락토바실러스 람노서스의 배양이 35 내지 39℃의 온도에서 수행되는 것을 특징으로 하는 세포외다당질의 생산 방법을 제공한다.

[0010] 또한 본 발명은 상기 락토바실러스 람노서스의 배양이 EPS-저생산 균주와의 공배양인 것을 특징으로 하는 세포외다당질의 생산 방법을 제공한다.

[0011] 본 발명은 또한 락토바실러스 람노서스의 배양 배지가 WPC(Whey Protein Concentration)을 포함하는 것인 세포외다당질의 생산 방법을 제공한다.

효 과

[0012] 본 발명의 생산 방법에 따르면, 락토바실러스 람노서스의 배양 조건의 조절을 통해 효율적으로 많은 양의 세포외다당질을 생산할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명은 락토바실러스 람노서스를 pH 5 내지 6의 배지에서 배양하고, 그에 따라 생성된 세포외다당질을 수득하는 것을 포함하는 세포외다당질의 생산 방법을 제공한다. 바람직하게는, 락토바실러스 람노서스는 pH 5.5의 배지에서 배양될 수 있다. 본 발명에서 사용되는 락토바실러스 람노서스는 락토바실러스 람노서스 균주 중 세포외다당질의 대량생산을 위해 사용될 수 있는 균주이면 어떠한 것이든 가능하나, 바람직하게는 락토바실러스 람노서스 ATCC9595일 것이다.

[0014] EPS 생산을 위해 이용되던 균주의 하나인 *Streptococcus thermophilus*의 경우 EPS 합성을 위한 최적의 pH는 pH 6.2라고 보고된 바 있다(De Vuyst L, et al., J Appl Microbiol. 84: 1059-1068 (1998)). 그러나 하기 실시예에서 확인한 바와 같이, 락토바실러스 람노서스의 경우에는 pH가 각각 4.5, 5.5, 6.5일 때 EPS 생산에 큰 차이가 있었으며, pH 5.5에서 최적의 EPS의 생산을 나타내었다.

[0015] 본 발명은 또한 락토바실러스 람노서스의 배양이 35 내지 39℃의 온도에서 수행되는 것을 특징으로 하는 세포외다당질의 생산 방법을 제공한다. 바람직하게는 락토바실러스 람노서스의 배양은 37℃에서 수행될 수 있다.

[0016] *Streptococcus thermophilus*의 경우 EPS 합성을 위한 최적의 온도는 42℃임이 보고된 바 있다(De Vuyst L, et al., J Appl Microbiol. 84: 1059-1068 (1998)). 다른 보고에서 중온성 미생물들은 37℃ 이하의 온도에서 더 많은 EPS 생산을 보였다(Kojic M, et al., Appl. Environ. Microbiol. 58: 4086-4088 (1992)). 이 보고들은 최적 온도가 LAB 균주의 종류에 따라 달라짐을 보여준다. 하기 실시예에서 락토바실러스 람노서스의 배양 온도를 달리하여 EPS 생산을 조사한 결과, 각각 32, 27, 42℃에서 EPS의 생산량이 현저히 달라짐을 확인할 수 있었으며, 최적의 배양온도는 37℃을 확인할 수 있었다.

[0017] 또한 본 발명은 상기 락토바실러스 람노서스의 배양이 EPS-저생산 균주와의 공배양인 것을 특징으로 하는 세포외다당질의 생산 방법을 제공한다. 본 발명에 있어서, 락토바실러스 람노서스와의 공배양에 사용되는 EPS-저생산 균주는 락토바실러스 람노서스 GG일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0018] 락토바실러스 람노서스와 EPS-저생산 균주와의 공-배양이 EPS 생산에 영향을 미칠 수 있음에 대해서는 보고된 바 없다. 단지 *S. thermophilus*에 의한 EPS의 생산이 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*의 존재시 증가한다는 보고가 있었을 뿐이다(Cerning J. FEMS Microbiol. Rev. 87: 113-130 (1990), Cerning J, et al.,

Biotechnol. Lett. 10: 255-260 (1988)). 하기 실시예에서 락토바실러스 람노서스 GG의 첨가로 인한 EPS 합성 증가는 락토바실러스 람노서스 두 균주 간의 상호 보완적인 관계를 암시한다. 락토바실러스 람노서스 ATCC 9595 균주만을 배양한 군에 비해 락토바실러스 람노서스 GG를 혼합하여 배양한 군의 EPS 생산이 높았다.

[0019] 본 발명은 또한 락토바실러스 람노서스의 배양 배지가 WPC(Whey Protein Concentration)을 포함하는 것인 세포 외다당질의 생산 방법을 제공한다.

[0020] 이스트 추출물이나 특정 아미노산 같은 질소원의 첨가가 EPS의 생산량을 증가시킬 수 있음이 보고된 바 있으나(De Vuyst L, et al., J Appl Microbiol. 84: 1059-1068 (1998), Gorret N, et al., J. Appl. Microbiol. 90: 788-796 (2001)), WPC의 첨가가 EPS의 생산량을 증가시킬 수 있음이 보고된 적은 없다. 하기 실시예에서는 WPC 첨가균의 EPS 생산량이 WPC 무첨가균에 비해 현저하게 증가하였음에 반해, WPC 첨가균의 박테리아 수는 WPC 무첨가균에 비해 낮음을 보여준다. 이는 WPC가 박테리아 성장보다 EPS 생산에 주로 이용되었음을 암시한다.

[0021] 본 발명에 있어서, 배지에 첨가되는 WPC의 농도는 0.5 내지 1.0%인 것이 바람직하다.

[0022] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[실시예]

[실시예 1: EPS 생산을 위한 pH 및 온도 조건의 확립]

[0025] EPS 생산 균주인 *L. rhamnosus* ATCC 9595와 *L. rhamnosus* GG(ATCC 53103)는 고려대학교 식품미생물 실험실에서 얻은 frozen stock collection으로부터 획득하였고 37℃, 18시간 MRS broth (Difco, Detroit, MI, USA)에서 3 번 sub-culture하였다. Stock culture는 20%(v/v) 글리세롤을 포함하는 10% RSM(reconstituted skim milk)에서 80℃로 보관하였다. 사용하기 전, 박테리아는 RSM 에서 37℃, 18 시간 동안 2번 sub-culture되었다.

[0026] 본 발명의 모든 실시예에서, EPS의 많은 생산을 위해 laboratory fermentor(Biostat C; B. Braun Biotech International, Melsungen, Germany)에서 48시간 동안 회분식 발효(batch fermentation)를 수행하였다.

[0027] EPS 생산에 대한 pH의 영향은 37℃에서 pH 4.5, 5.5, 6.5에서 각각 분리 발효되어 시험하였다. 원하는 pH는 5N NaOH를 사용해 24시간 동안 자동으로 유지되었다(Whatman Lab Sales, Clifton, NJ, USA). 샘플들은 처음과 이후 6시간마다 무균처리하여 모았다. EPS는 phenol-sulfuric method (Dubois M, et al., Anal. Chem. 28: 350-356 (1956))로 정량했고 glucose standard로 나타내었다. 세포성장물은 MRS 아가 배지(Difco) 내에서 37℃에서, 72시간 동안 혐기성 배양(BBL Gas-Pak system, Sparks, MD, USA)한 후에 살아있는 세포의 수로 측정하였다. 모든 실험은 세 번 반복되었다. 통계적인 조사는 general linear model procedure를 사용한 SAS에 의해 수행되었다. 유의도는 Tukey's test를 이용해 $p < 0.05$ 이다. 모든 표에서, 상이한 윗첨자는 $p < 0.05$ 에서의 차이를 나타낸다.

[0028] 표 1 및 도 1은 37℃, 10%(w/v) RSM에서 24시간 발효된 *L. rhamnosus* ATCC9595의 EPS 생산과 박테리아 증식에 대한 pH의 영향을, 각각 pH 4.5, 5.5, 6.5인 상태에서 나타낸다. 예상한 바와 같이 24시간 발효 후($p < 0.05$) pH가 각각 4.5, 5.5, 6.5일 때 EPS 생산에 중요한 차이가 있었다. EPS 생산은 pH4.5에서 현저하게 감소하였고, 이 pH는 다른 pH 조건과 비교할 때 박테리아 수에도 영향을 미쳤다. pH 5.5에서 *L. rhamnosus* ATCC 9595의 확인한 EPS 생산이 관찰되었다(24시간 발효시 650 ± 14.3 mg/L 생산).

[표 1]

pH	발효 시간 (hr)	EPS(mg/L)	Bacterial count (log CFU/mL)
4.5	24	65 ± 1.3^c	5.15 ± 0.34^c
5.5	24	650 ± 14.3^a	8.63 ± 0.16^a
6.5	24	415 ± 10.9^b	7.45 ± 0.15^b

[0031] EPS 생산에 대한 온도의 영향을 이해하기 위해 각각 32, 27, 42℃에서 분리 발효하며 다양한 온도를 조사하였다. pH는 앞서 언급했듯 EPS 생산에 적합한 것으로 조사된 pH 5.5로 유지하였다. 그 결과, 표 2 및 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 최적 온도는 37℃로 증명되었다. 32, 40, 42℃에서 각각 303 ± 11.5 , 456 ± 18.6 , 272 ± 13.3 mg/L이었던 반면, 37℃에서 EPS 총 생산이 650 ± 4.3 mg/L이었다. 세포수의 경우에도 24시간 발효 동안 비슷한 경향이 관찰되었다.

[0032] [표 2]

온도 (℃)	발효시간(hr)	EPS(mg/L)	Bacterial count (log CFU/mL)
32	24	303 ± 11.5^c	7.25 ± 0.16^b
37	24	650 ± 14.3^a	8.63 ± 0.16^a
40	24	456 ± 18.6^b	7.88 ± 0.11^b
42	24	272 ± 13.3^c	7.41 ± 0.14^b

[0034] 이러한 결과들을 바탕으로 하기 실시예들에서는 pH 5.5, 37℃를 기본 발효 조건으로 선택하였다.

[0035] 실시예 2: 공-배양에 따른 EPS 생산량의 변화 확인

[0036] *L. rhamnosus* ATCC의 EPS 생산에 있어서, EPS 저생산 균주인 *L. rhamnosus* strain GG와의 공-배양의 영향을 조사하였다. *L. rhamnosus* ATCC 9595와 *L. rhamnosus* GG를 75:25, 50:50, 그리고 25:75(v/v)로 혼합한 균의 EPS 생산량을 조사하였다. 발효는 37℃, pH 5.5에서 24시간 동안 수행되었으며, 발효 방법 및 EPS 측정 방법은 실시예 1과 같다.

[0037] 표 3 및 도 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 75% *L.rhamnosus* ATCC 9595 와 25% *L.rhamnosus* GG 혼합물은 24시간 발효 시 가장 높은 EPS 생산을 보였다. 또한, 각 50% 혼합물에서 EPS 생산이 100% *L.rhamnosus* ATCC 9595 균에서의 EPS 생산량보다 높았다. 예상한 대로 25% *L.rhamnosus* ATCC 9595 와 75% *L.rhamnosus* GG 혼합물에서 EPS 생산량이 가장 적었다. 그렇지만 세포 수는 단일 배양시 보다 두 균주를 공-배양 하였을 때 약간 적었다. 공-배양균은 24시간 발효 시 일관된 EPS 생산 증가를 보인 반면, 단일 균주의 경우에는 EPS 합성 속도가 12시간 발효 후 느려졌다. 이러한 결과는 *L.rhamnosus* GG의 첨가로 인한 EPS 합성 증가는 *L. rhamnosus*의 두 균주 간의 상호 보완적인 관계를 암시한다. 또한, weak-EPS producer인 *L. rhamnosus* GG 가 *L.rhamnosus* ATCC 9595의 EPS 합성을 유발하는 필수 성분을 제공할 뿐만 아니라 세포 성장에는 영향을 미치지 않음을 암시한다.

[0038] [표 3]

The ratio of strain (9595:GG)	Fermentation time (hr)	EPS(mg/L)	Bacterial count (log CFU/mL)
100%:0%	24	650 ± 14.3^c	8.63 ± 0.16^a
75%:25%	24	865 ± 22.6^a	7.95 ± 0.19^b
50%:50%	24	726 ± 14.9^b	7.25 ± 0.21^b
25%:75%	24	456 ± 13.7^d	6.34 ± 0.15^c

[0040] 실시예 3: WPC의 첨가에 따른 EPS 생산량의 변화 확인

[0041] WPC를 포함한 80% 단백질(Davisco, Eden Prairie, MN, USA)이 추가적인 질소원으로 사용되었다. 멸균 전에 RSM at 0.5, 1, 1.5(w/v) 에 WPC가 첨가되었다. 발효는 37℃, pH5.5에서 수행되었다. 그리고 EPS 생산에 대한 pH 와 WPC의 영향은 자동 pH 조절기를 제거하여 수행하였고 37℃에서 24시간 발효되는 동안 pH가 자유롭게 떨어질 수 있도록 하였다.

[0042] 표 4는 24시간 발효 동안 세포 성장과 EPS 생산에 대한 서로 다른 WPC 농도의 영향을 보여준다. 24시간 발효 후, WPC가 첨가된 배지의 EPS 생산량이 650 ± 14.3 mg/L(WPC 무첨가)에서 1011 ± 14.7 mg/L(1.0% WPC 첨가 시)로 현저하게 증가하였음에 반해, WPC가 첨가된 배지의 박테리아 수는 WPC를 첨가하지 않은 배지보다 낮았다. 이는 WPC가 박테리아 성장보다 EPS 생산에 주로 이용되었음을 암시한다. 0.5와 1.0% 농도의 WPC 사이에는 EPS 생산에 있어서 별다른 차이가 없었다. 이 결과로부터 0.5% WPC 첨가는 비용 절감에 적합할 것임을 알 수 있다.

[0043] [표 4]

[0044]

Concentration of WPC	EPS (mg/L)	Bacterial count (Log CFU/mL)
0%	$650 \pm 14.3^{b\ 1}$	8.63 ± 0.16^a
0.5%	983 ± 21.3^a	7.76 ± 0.16^b
1.0%	$1,011 \pm 14.7^a$	7.84 ± 0.13^b
1.5%	979 ± 23.5^a	7.66 ± 0.29^b

[0045] 37℃, 24시간 발효 동안 EPS 생산에 있어서 pH와 WPC의 영향은 표 5 및 도 4에 나타나 있다. WPC 농도는 0.5%로 고정되었다. WPC 존재 하에서, pH 5.5로 pH를 조절한 군과 비교할 때 pH를 조절하지 않은 군에서의 EPS 생산이 확실히 감소되었다. 이는 WPC를 포함한 RSM 배지에서, 발효 중의 pH 조건이 LAB에서의 EPS 생산에 하나의 중요한 요인 됨을 암시한다. 반면 비조절된 pH 조건에서 0.5% WPC(594 ± 13.8 mg/L)가 첨가된 경우가, 비조절된 pH 조건에서 WPC 첨가하지 않은 경우(483 ± 10.3 mg/L; 데이터 표시하지 않음) 보다 EPS 생산이 증가하였다.

[0046] [표 5]

[0047]

	발효 시간 (hr)	EPS (mg/L)	Bacterial Count (log CFU/mL)
Control (No WPC)	24	650 ± 14.3^b	8.63 ± 0.16^a
0.5% WPC (pH controlled)	24	983 ± 21.3^a	7.76 ± 0.16^c
0.5% WPC (pH uncontrolled)	24	594 ± 13.8^c	8.01 ± 0.11^b

도면의 간단한 설명

[0048] 도 1은 10% RSM, 37℃에서, 각기 다른 pH 조건[pH 4.5(A), pH 5.5(B); pH 6.5(C)]에 따른, *L.rhamnosus* ATCC 9595의 배양에 의한 박테리아 수(선)와 EPS 생산량(수직 막대)(mean±SE)을 보여주는 그래프이다.

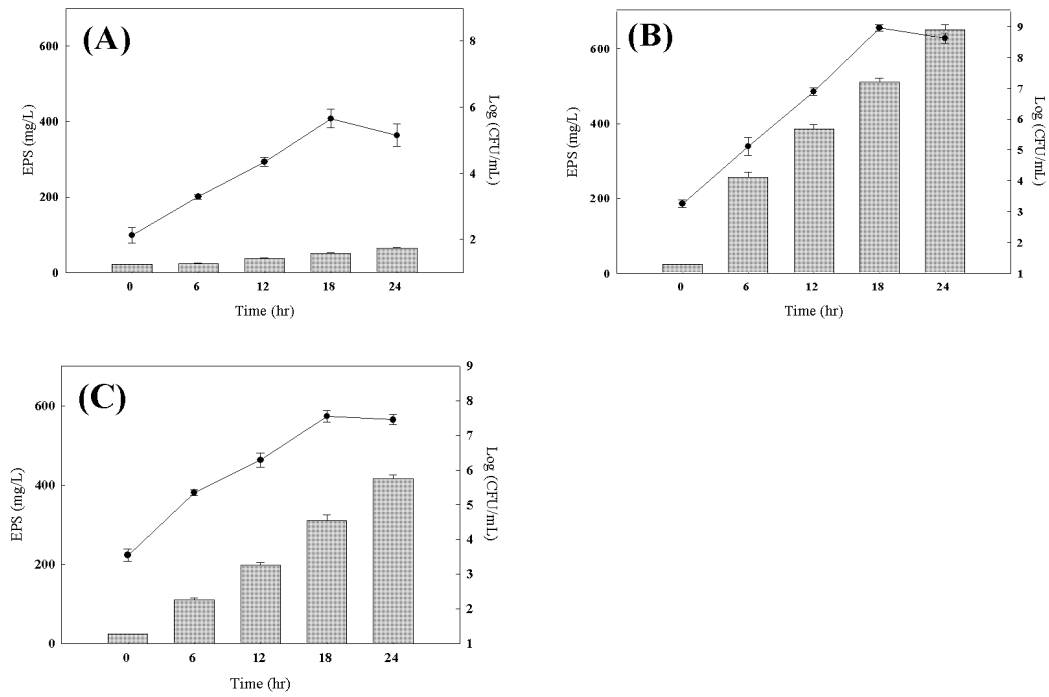
[0049] 도 2는 10% RSM, pH 5.5의 조건에서, 각기 다른 온도 조건[32℃(A); 37℃(B); 40℃(C); 42℃(D)]에 따른, *L.rhamnosus* ATCC 9595의 배양에 의한 박테리아 수(선)와 EPS 생산량(수직 막대)(mean±SE)을 보여주는 그래프이다.

[0050] 도 3은 10% RSM, 37℃, pH 5.5의 조건에서, *L.rhamnosus* ATCC 9595와 *L.rhamnosus* GG 의 공배양[A는 *L.rhamnosus* ATCC 9595:*L.rhamnosus* GG=100:0; B=75:25; C=50:50; D=25:75]에 의한 박테리아 수(선)와 EPS 생산량(수직 막대)(mean±SE)을 보여주는 그래프이다.

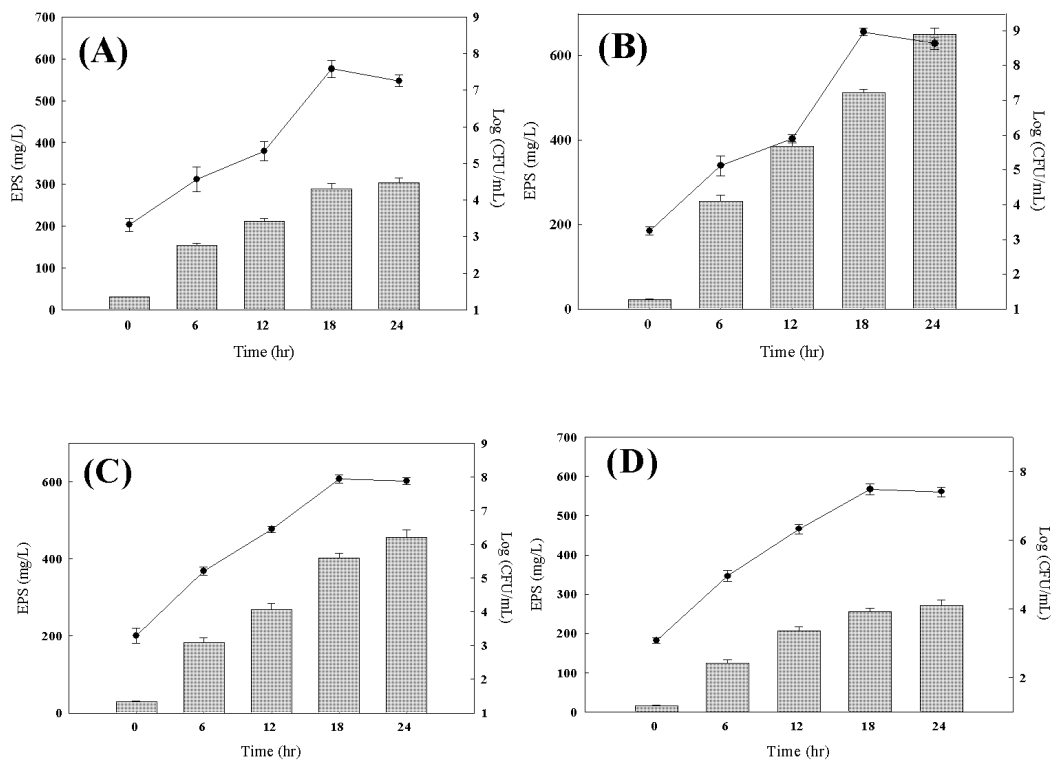
[0051] 도 4는 37℃의 조건에서, 각기 다른 농도의 WPC 첨가량[A는 WPC 무첨가; B는 0.5% WPC 첨가 (pH 조절); C는 0.5% WPC 첨가 (pH 비조절)]에 따른 *L.rhamnosus* ATCC 9595의 배양에 의한 박테리아 수(선)와 EPS 생산량(수직 막대)(mean±SE)을 보여주는 그래프이다.

도면

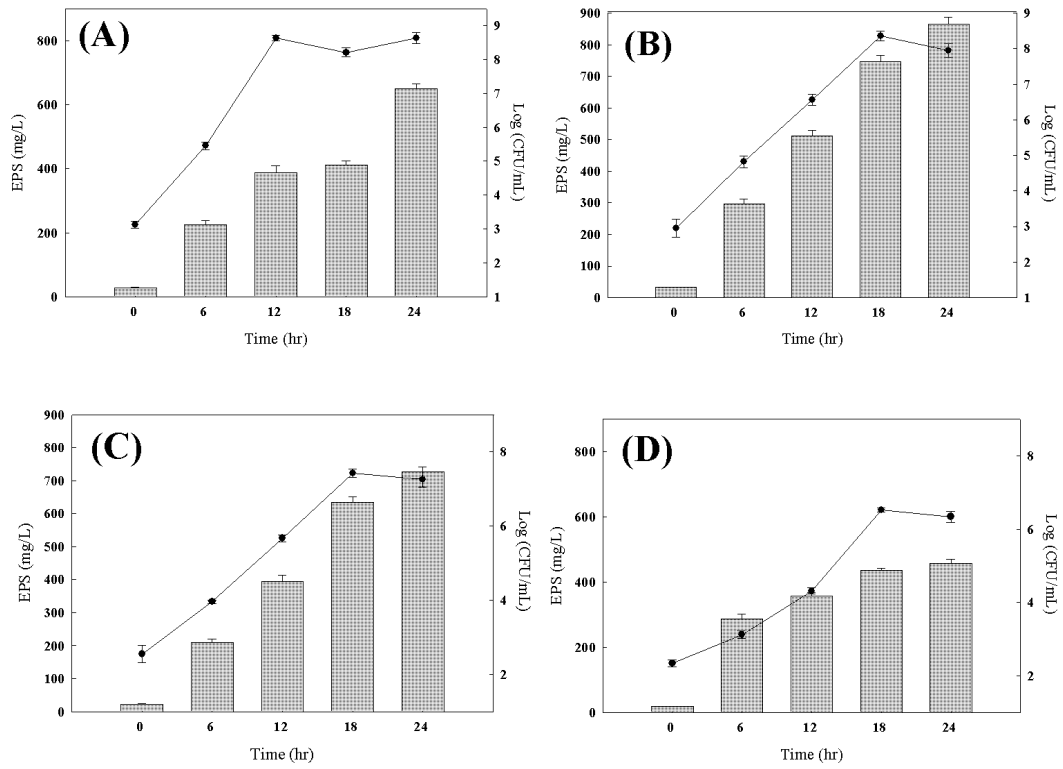
도면1



도면2



도면3



도면4

