(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0096914
(43) 공개일자 2025년06월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) *A23L 7/104* (2022.01)
C12R 1/46 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 1/205 (2021.05)
A23L 7/104 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2023-0186659
(22) 출원일자 2023년12월20일
심사청구일자 2023년12월20일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
서동호
전라북도 전주시 덕진구 틀못1길 15, 505동 2001호 (장동, 호반베르디움 더센트럴 1)
박천석
경기도 남양주시 와부읍 덕소로116번길 49, 106동 1303호 (현대홈타운아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태백

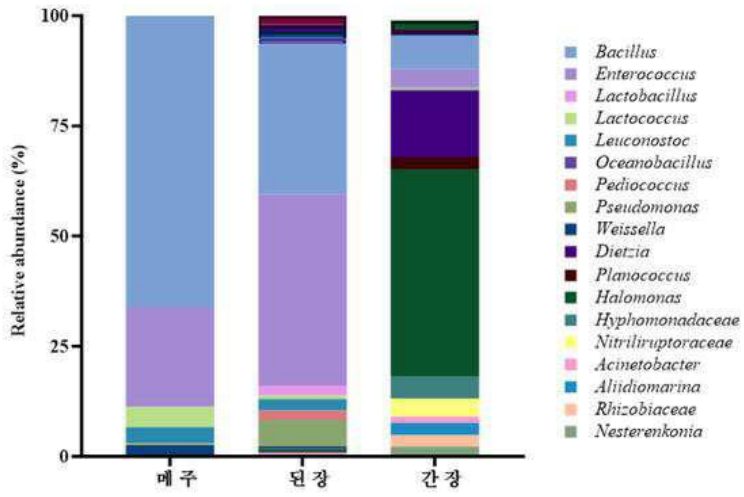
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **신규 엔테로코커스 파에시움 균주 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 신규 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주 및 이를 이용한 귀리 발효물에 관한 것으로, 전통 발효 식품인 메주의 우점종으로 존재한 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주는 귀리 발효시 pH 수준이 감소하고 아세트산(acetic acid), 시트르산(citric acid), 포름산(formic acid), 젖산(lactic acid), 푸마르산(fumaric acid), 말산(malic acid), 및 옥살산(oxalic acid)과 같은 유기산의 함량이 증가하는 것을 확인함으로써, 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주를 귀리 발효용 균주로 제공 한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12R 2001/46 (2021.05)
(72) 발명자
김예진
서울특별시 용산구 효창원로 17, 111동 204호 (산천동, 리버힐삼성아파트)
정선웅
전라북도 익산시 선화로 17, 111동 802호 (모현동2가, 배산 제일 오투그란데)
소윤상
전라북도 전주시 덕진구 출판로 87, 204동 1302호 (장동, 호반베르디움더클래스)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395076093
과제번호	PJ017093032022
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	K-농식품자원기능성성분활용기반고도화
연구과제명	발효식품의 제조·환경생태계에 따른 발효미생물 및 발효산물 DB화(3공동)
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교산학협력단
연구기간	2022.04.01 ~ 2022.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

수탁번호 KACC 92566P로 기탁된 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 균주는 서열번호 5의 16s rRNA 서열을 암호화하는 DNA 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 균주.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 균주는 메주에서 분리된 것을 특징으로 하는 균주.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 균주는 귀리(*Avena sativa*)를 발효하기 위한 발효 균주인 것을 특징으로 하는 균주.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 균주는 귀리 발효시 아세트산(acetic acid), 시트르산(citric acid), 포름산(formic acid), 젖산(lactic acid), 푸마르산(fumaric acid), 말산(malic acid), 및 옥살산(oxalic acid) 중 선택된 어느 한 종의 유기산의 함량을 향상시키는 효과가 있는 것을 특징으로 하는 균주.

청구항 6

제1항의 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주 및 이의 배양액을 포함하는 귀리 발효용 스타터 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 스타터 조성물은 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주를 25℃ 내지 35℃에서 12 시간 내지 36 시간 배양된 균체를 포함하는 것을 특징으로 하는 귀리 발효용 스타터 조성물.

청구항 8

제1항의 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주로 발효된 귀리 발효물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 신규 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주 및 이를 이용한 귀리 발효물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 귀리(*Avena sativa*)는 외떡잎식물의 벼 과에 속하는 식물로 메밀이나 호밀과 마찬가지로 척박한 땅에서 자생할 수 있기 때문에, 동유럽이나 북유럽 등지에서 많이 재배되는 곡식류이다. 귀리는 슈퍼푸드로 선정될 만큼 현미와 백지에 비해 단백질, 칼슘, 필수 아미노산 함량이 풍부하여 성장기 어린이나 채식위주의 식단을 섭취하는 사람들에서 좋은 단백질, 칼슘 공급원으로 활용된다. 귀리는 재배 면적이 세계에서 5번째로 많을 정도로 매우 중요한 작물로 주목받고 있으며, 귀리의 영양학적 가치가 알려지면서 전 세계적으로 인기 있는 곡물로 급부상하고 있다. 특히 귀리 최대 생산국인 캐나다와 호주 등에서는 꾸준히 생산량이 증가하고 있으며, 미국이나 유럽에서는 귀리를 가공하여 주로 아침식사로 애용하고 있다. 귀리가 함유된 제품은 주로 간단한 시리얼(뮤즐리나 오트밀, 그래놀라) 형태로 제조되고 있으며, 간편하면서 풍부한 영양성분을 채울 수 있다는 점 때문에 소비 경향이

증가하고 있다. 또한, 죽을 끓여 소화를 용이하게 하거나 요거트나 견과류, 과일 등을 곁들여 맛과 영양을 향상시키는 등 식품학적으로 귀리를 활용하는 제품이 출시되고 있다.

[0003] 국내에서는 귀리가 식감이 거칠다는 이유로 외면 받아왔지만, 귀리의 영양학적 가치가 입증됨에 다라 국내 식품사들에서도 귀리를 이용한 제품 개발이 참여하고 있다. 수입산 귀리가 대부분이었던 과거에 비해 국내에도 귀리의 재배가 꾸준히 증가한 영향도 크다. 국내에서 개발되는 귀리 제품은 주로 밥에 넣어 먹는 혼반용, 귀리가루를 섞은 미숫가루나, 귀리 빵, 시리얼 등으로 제조되고 있다. 귀리의 지방산 조성은 올레산, 리놀레산, 팔미트산, 스테아린산, 리놀렌산 순으로, 불포화지방산은 올레인산과 리놀레산 그리고 리놀렌산이며 불포화지방산의 함량이 높은 수준이다. 또한 귀리에는 수용성 식이섬유의 일종인 베타글루칸이 풍부하여 심혈관 질환의 예방이 도움된다고 기능성이 보고된 바 있다. 이러한 귀리의 영양학적 가치가 인정됨에 따라 귀리를 가공하여 식품으로 제조하려는 다양한 시도가 보고되었다. 통상적으로는 귀리는 저온 복기 과정을 통해 귀리 특유의 풍미를 상당부분 향상시키는 가공 처리되었다. 일각에서는 귀리를 유산균으로 발효하여 그 풍미 및 기능성이 향상되는 것을 확인함에 따라 귀리 발효 식품을 제조할 수 있는 귀리 발효용 유산균이 주목을 받고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-2050996호 (2019. 12. 02. 공고)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 귀리 발효에 사용될 유용한 발효 균주를 새롭게 탐색하고 이를 통해 제조된 귀리 발효물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명은 귀리 발효용 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주를 제공한다.

[0007] 또한, 본 발명은 상기 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주 및 이의 배양액을 포함하는 귀리 발효용 스타터 조성물을 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주로 발효된 귀리 발효물을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명에 따르면, 전통 발효 식품인 메주의 우점종으로 존재한 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주는 귀리 발효시 pH 수준이 감소하고 아세트산(acetic acid), 시트르산(citric acid), 포름산(formic acid), 젖산(lactic acid), 푸마르산(fumaric acid), 말산(malic acid), 및 옥살산(oxalic acid)과 같은 유기산의 함량이 증가하는 것을 확인함으로써, 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주를 귀리 발효용 균주로 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 전통 발효 식품인 메주, 된장 및 간장에서 우점종으로 존재하는 유산균을 분석한 결과이다.

도 2는 전통 발효 식품인 메주에서 분리 배지에 따른 우점종으로 존재하는 유산균을 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 판례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.

[0012] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0013] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0014] 본 발명은 귀리 발효용 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주를 제공한다.

[0015] 상기 균주는 서열번호 5의 16s rRNA 서열을 암호화하는 DNA 서열을 포함한다. 구체적으로 본 발명의 귀리 발효용 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주는 전통 발효 식품인 메주의 우점종을 존재하였으며, MRS(De Man Rogosa Sharpe) 배지로 분리되었고, 16S rRNA 서열 분석 시 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) strain DSM 20477 균주와 99.92% 상동성이 있는 것으로 나타났다.

[0016] 상기 균주는 귀리 발효능이 우수하여 귀리 발효 시 유기산의 생산이 높아 pH 감소 수준이 우수한 것으로 확인되었으며, 상기 균주로 귀리 발효시 아세트산(acetic acid), 시트르산(citric acid), 포름산(formic acid), 젖산(lactic acid), 푸마르산(fumaric acid), 말산(malic acid), 및 옥살산(oxalic acid) 등의 유기산의 함량이 현저히 향상되는 것을 확인하였다.

[0017] 상기 본 발명의 귀리 발효용 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주는 2023년 11월 03일(수탁일자)로 농촌진흥청 국립농업과학원 미생물은행(KACC)에 기탁하여 수탁번호 KACC 92566P을 발급받았다.

[0018] 또한, 본 발명은 상기 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주 및 이의 배양액을 포함하는 귀리 발효용 스타터 조성물을 제공한다. 상기 스타터 조성물은 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주를 25℃ 내지 35℃에서 12 시간 내지 36 시간 배양된 균체를 포함한다.

[0019] 또한, 본 발명은 상기 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주로 발효된 귀리 발효물을 제공한다.

[0020] 본 발명의 귀리 발효물은 식품 조성물로 이용될 수 있으며, 상기 식품 조성물은 건강기능 식품 조성물 뿐만 아니라 인간이 널리 통상적으로 매일 섭취하는 일반적인 식품을 포함하는 것일 수 있다. 건강기능식품으로서 이용될 경우 식품학적으로 허용 가능한 담체 또는 첨가제와 함께 당해 기술분야에 공지되어 있는 통상적인 건강기능식품의 제형으로 제제화 될 수 있다. 상기 건강기능식품은 예를 들어 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽제, 액제, 엑스제, 차, 젤리, 또는 음료 등으로 제조될 수 있다. 식품학적으로 허용 가능한 담체 또는 첨가제는 제조하고자 하는 제형의 제조에 당해 기술분야에서 사용 가능한 것으로 공지되어 있는 임의의 담체 또는 첨가제가 이용될 수 있다.

[0021] 예를 들어, 캡슐 형태의 건강기능 식품 중 경질캡슐제는 통상의 경질캡슐에 본 발명에 따른 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합 및 충진하여 제조할 수 있으며, 연질캡슐제는 본 발명에 따른 조성물의 부형제 등의 첨가제와 혼합하고 젤라틴 등 캡슐기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡슐제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0022] 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0023] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0024] **실시예 1. 기능성 유산균 분리 및 동정**

[0025] 귀리 발효능이 우수한 유산균을 발굴하기 위해 전통 발효식품인 메주, 된장, 간장의 발효능이 우수한 유산균을 분석하여 분리 및 동정하였다.

[0026] *1-1. 전통 발효식품 내 우점종 확인*

[0027] 전통 발효 식품인 메주, 된장 및 간장 등에 우점종으로 존재하는 유산균을 분석하기 위해 수집된 발효식품 3종의 샘플에 DNA를 추출하여 우점종 유산균의 종류를 유전적으로 분석하였다. genomic DNA는 DNeasy PowerSoil

Pro kit를 사용하여 추출하였다. 추출된 DNA로부터 세균의 종류를 분석하기 위해 유니버셜 프라이머(Universal primer)인 V3 - V4 프라이머(forward: TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG; 서열번호 8, revers : GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC; 서열번호 9)를 이용하여 V3 - V4 구간을 증폭시켜 메타지놈 라이브러리(library)를 구축하였다. SILVA database (https://www.arb-silva.de/)를 이용하여 각 샘플의 세균 군집 분포를 분석하였다. 도 1에 나타난 바와 같이, 3종의 시료에서 우점종의 분포를 속(genus) 수준에서 분석하였다. 메주 샘플에서 우점종과 각 우점종의 분포%는 *Bacillus* 속이 66.1% 존재하고 그 다음으로 *Enterococcus* 속이 22.6% 존재하는 것으로 확인되었다. 된장 샘플에서 우점종과 각 우점종의 분포%는 *Bacillus* 속이 33.9% 존재하고 그 다음으로 *Enterococcus* 속이 43.5% 존재하는 것으로 확인되었다. 간장 샘플에서 우점종과 각 우점종의 분포%는 *Halomonas* 속이 47.0% 존재하고 그 다음으로 *Dietzia* 속이 15.2% 존재하는 것으로 확인되었다. 특히 메주 샘플에서는 우점종인 *Bacillus* 속 및 *Enterococcus* 속 말고도 *Leuconostoc* 속이 3.6% 존재하고, *Lactococcus* 속이 4.6% 존재하고, *Weissella* 속이 2.6% 존재하는 것으로 확인되었다. 분석 결과 메주 샘플에서 유산균의 분포가 가장 풍부한 것으로 확인되었으며, 귀리의 발효에 사용될 발효 균주를 메주의 샘플에서 탐색하였다.

[0028] 1-2. *발효 유산균의 분리 및 동정*

[0029] 메주 샘플로부터 귀리 발효능이 우수한 발효 균주를 분리하기 위해 연속 희석법으로 우점종 미생물을 분리하고 종명을 동정하였다. 연속희석법에는 MRS(De Man Rogosa Sharpe) 배지, BHI(Brain Heart Infusion) 배지, TSA(Tryptic Soy Agar) 배지를 사용하였다. 희석된 메주 샘플 시료를 배지에 도말하고, 30℃에서 24 시간 내지 48 시간 동안 배양하였다. 이 후, 배지 상에 나타난 세균의 콜로니를 분리하고, 세균의 16S rRNA를 분석하여 종명을 동정하였다. 16S rRNA 서열은 27_F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 1492_R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 프라이머(primer)를 이용하여 PCR로 증폭된 산물의 염기서열을 확인하고, NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) 상에 공개된 정보와 비교하여 우점종의 종명을 동정하였다. 도 2에 나타난 바와 같이, 메주 샘플의 우점종이 각 분리배지에 분포한 비율을 속(genus) 수준에서 분석하였다. *Enterococcus* 속의 경우, MRS 배지에서는 63.2%, TSA 배지에서는 70.2%, BHI 배지에서는 66.3%로 3종의 배지에서 높은 비율로 나타났다. MRS 배지에서는 *Leuconostoc sp.*의 분리 비율이 16.2%로 가장 높은 것으로 나타났다. 유산균의 다양성이 높은 것으로 확인된 MRS 배지에서 분리된 13종의 발효 균주들의 종명을 16s rRNA로 동정하였다(표 1). 그 결과 4종은 류코노스톡 메젠테로이드 아종(*Leuconostoc mesenteroides subsp.*) Dextranicum strain NCFB 529로 동정되었고, 5 종은 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) strain DSM 20477으로 동정되었고, 2 종은 로이콜락토바실러스 코리니포미스 아종(*Loigolactobacillus coryniformis subsp.*) torquens strain 30로 동정되었다.

표 1

[0030]

Reference strains	Similarity (%)
Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum strain NCFB 529	100
Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum strain NCFB 529	99.92
Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum strain NCFB 529	99.92
Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum strain NCFB 529	99.92
Enterococcus faecium strain DSM 20477	100
Enterococcus faecium strain DSM 20477	99.92
Enterococcus faecium strain DSM 20477	99.92
Enterococcus faecium strain DSM 20477	99.79
Enterococcus faecium strain DSM 20477	99.77
Loigolactobacillus coryniformis subsp. torquens strain 30	99.89
Loigolactobacillus coryniformis subsp. torquens strain 30	99.85

[0031] **실시예 2. 귀리 발효를 통한 귀리발효용 유산균 선별 및 귀리발효유 평가**

[0032] 상기 분리된 유산균 중에서 상동성(similarity)이 100%인 균주를 제외하고, 8 종의 균주를 선별하였다. 선별된 8종의 유산균 중에서 귀리 발효능이 우수한 균주를 선별하였다. 1번 균주는 류코노스톡 메젠테로이드 아종(*Leuconostoc mesenteroides subsp.*)Dextranicum strain NCFB 529 균주와 99.92% 상동성으로 동정된 균주(16s rRNA : 서열번호 1)이고, 2번 균주는 류코노스톡 메젠테로이드 아종(*Leuconostoc mesenteroides subsp.*)

Dextranicum strain NCFB 529균주와 99.92% 상동성으로 동정된 균주(16s rRNA : 서열번호 2)이고, 3번 균주는 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) strain DSM 20477 균주와 99.92% 상동성으로 동정된 균주(16s rRNA : 서열번호 3)이고, 4번 균주는 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) strain DSM 20477 균주와 99.92% 상동성으로 동정된 균주(16s rRNA : 서열번호 4)이고, 5번 균주는 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) strain DSM 20477 균주와 99.92% 상동성으로 동정된 균주(16s rRNA : 서열번호 5)이고, 6번 균주는 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) strain DSM 20477 균주와 99.906% 상동성으로 동정된 균주(16s rRNA : 서열번호 6)이고, 7번 균주는 로이콜락토바실러스 코리니포미스 아종(*Loigolactobacillus coryniformis subsp.*) torquens strain 30 균주와 99.85% 상동성으로 동정된 균주(16s rRNA : 서열번호 7)이다. 선별된 7종의 유산균으로 귀리 발효를 위한 스타터(starter)로 제조하기 위해 MRS(de Man, Rogosa and Sharpe) 배지에서 30℃ 조건으로 24 시간 배양하였다. 귀리(*Avena sativa*) 10 g를 분쇄하여 100 mL의 증류수와 혼합하고, 천으로 여과한 여과액을 121℃에서 15분 동안 멸균하였다. 멸균된 귀리 여과액 10 mL에 7종의 유산균을 각각 1%의 농도 조건으로 접종한 후, 37 ℃에서 24 시간 동안 발효한 후, 발효 전 후의 pH 변화 및 유기산 변화를 평가하였다.

[0033] *2-1. pH 변화 평가*

표 2

[0034]

Strain No.	Reference strains	Similarity (%)	pH (control : 6.28±0.02)
1	*Leuconostoc mesenteroides subsp.* Dextranicum strain NCFB 529	99.92	4.26±0.01
2	*Leuconostoc mesenteroides subsp.* Dextranicum strain NCFB 529	99.92	4.26±0.01
3	*Enterococcus faecium strain* DSM 20477	99.92	3.96±0.03
4	*Enterococcus faecium strain* DSM 20477	99.92	3.93±0.02
5	*Enterococcus faecium strain* DSM 20477	99.92	3.89±0.03
6	*Enterococcus faecium strain* DSM 20477	99.90	4.00±0.07
7	*Loigolactobacillus coryniformis subsp.* torquens strain 30	99.85	4.78±0.05

[0035] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 발효 전에 pH가 6.28±0.02인 것에 비해 유산균으로 발효한 경우 pH 수준이 감소하여 발효가 진행된 것으로 확인되었다. 1번 균주인 류코노스톡 메젠테로이드 아종(*Leuconostoc mesenteroides subsp.*)로 발효한 경우 pH 수준이 4.26±0.01로 나타났다. 2번 균주인 류코노스톡 메젠테로이드 아종(*Leuconostoc mesenteroides subsp.*) 균주로 발효한 경우 pH 수준이 4.26±0.01로 나타났다. 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주인 3번, 4번, 5번, 6번 균주로 발효한 경우들 중에서 5번 균주로 24 시간 발효한 경우 pH 수준이 3.89±0.03으로 가장 낮아지는 것을 확인하였다. 로이콜락토바실러스 코리니포미스 아종(*Loigolactobacillus coryniformis subsp.*)인 7번 균주로 발효한 경우는 pH 감소가 크지 않은 것으로 확인되었다. 상기 결과 귀리 발효에 적합한 균주는 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 균주 및 류코노스톡 메젠테로이드 아종(*Leuconostoc mesenteroides subsp.*)인 것으로 확인되었으며, 그중 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 5번 균주가 귀리 발효에 가장 적합한 균주인 것으로 확인되었다.

[0036] *2-2. 유기산 변화 평가*

표 3

[0037]

Sample	Organic acid (mg/100mL)						
	acetic acid	citric acid	formic acid	lactic acid	fumaric acid	malic acid	oxalic acid
control	0±0	2.39±0.04	1.40±0.11	27.06±2.68	0.2±0.01	9.17±1.12	1.47±0.13
NO. 5 strain	26.56±3.47	5.35±1.11	1.69±0.03	155.68±4.05	0.23±0.01	11.55±1.68	1.68±0.20
NO. 6 strain	4.98±1.23	0±0	0±0	52.72±6.82	0.19±0.04	3.84±0.71	1.29±0.06
NO. 1 strain	27.18±3.29	5.90±1.71	1.68±0.07	146.15±3.19	0.21±0.01	10.80±1.72	1.77±0.19

[0038] 발효가 완료된 귀리액을 0.2 ㎛ membrane 필터로 여과한 후, HPLC(high performance liquid chromatography)를 사용하여 유기산의 함량을 분석하였다. 각 유기산의 표준 시료로 검량선을 작성한 후, 각 발효 샘플에 함유된 유기산의 함량을 정량 분석하였다. 표준 시료는 아세트산(acetic acid), 시트르산(citric acid), 포름산(formic acid), 젖산(lactic acid), 푸마르산(fumaric acid), 말산(malic acid), 및 옥살산(oxalic acid)를 사용하였다. 대조군(control)은 유산균 대신 증류수를 첨가한 귀리 멸균액을 사용하였다. 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 말산 (malic acid) 및 옥살산 (oxalic acid)을 제외하고, 나머지 유기산의 함량은 대조군에 비해 유의하게 증가하는 것으로 나타났다. 특히, 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*)인 5번 균주로 발효한 경우, 아세트산 (acetic acid) 및 젖산 (lactic acid)의 함량이 약 27배 및 약 6배 증가하는 것으로 나타났다. 또한, 류코노스톡 메젠테로이드(*Leuconostoc mesenteroides*)인 1번 균주와 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*)인 5번 균주로 발효한 경우, 젖산 (lactic acid)를 제외한 다른 유기산의 함량을 유사한 결과를 가졌다. 추가로, 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*)인 5번 균주와 동일한 종 (species) 뿐만 아니라 유사도가 낮은 균주인 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*)인 6번 균주를 귀리 발효 후, 유기산을 측정하였다. 그 결과 모든 유기산 함량이 6번 균주보다 5번 균주가 더 높은 것으로 확인되었다. 류코노스톡 메젠테로이드 아종(*Leuconostoc mesenteroides subsp.*)인 1번 균주와 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*)인 6번 균주보다 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*)인 5번 균주의 귀리 발효 이후 유기산 함량이 높게 나왔으며, 이는 발효환경 (pH, 온도 등)에서 생장 할 수 있는 내성을 지닌것으로 예측할 수 있으며, 이는 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*)인 5번 균주가 더 적합한 것으로 확인되었다.

[0039] 상기 귀리 발효능이 우수한 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*) 5번 균주는 2023년 11월 03일(수탁일자)로 농촌진흥청 국립농업과학원 미생물은행(KACC)에 기탁하여 수탁번호 KACC 92566P을 발급받았다.

[0040] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

[0041] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.

수탁번호

[0042]

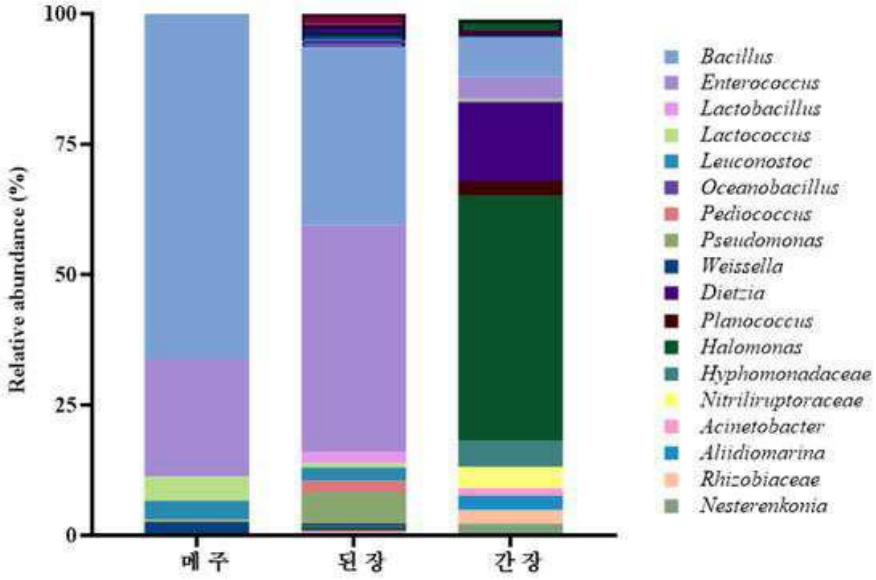
기탁기관명 : 농촌진흥청 국립농업과학원 미생물은행(KACC)

수탁번호 : KACC92566P

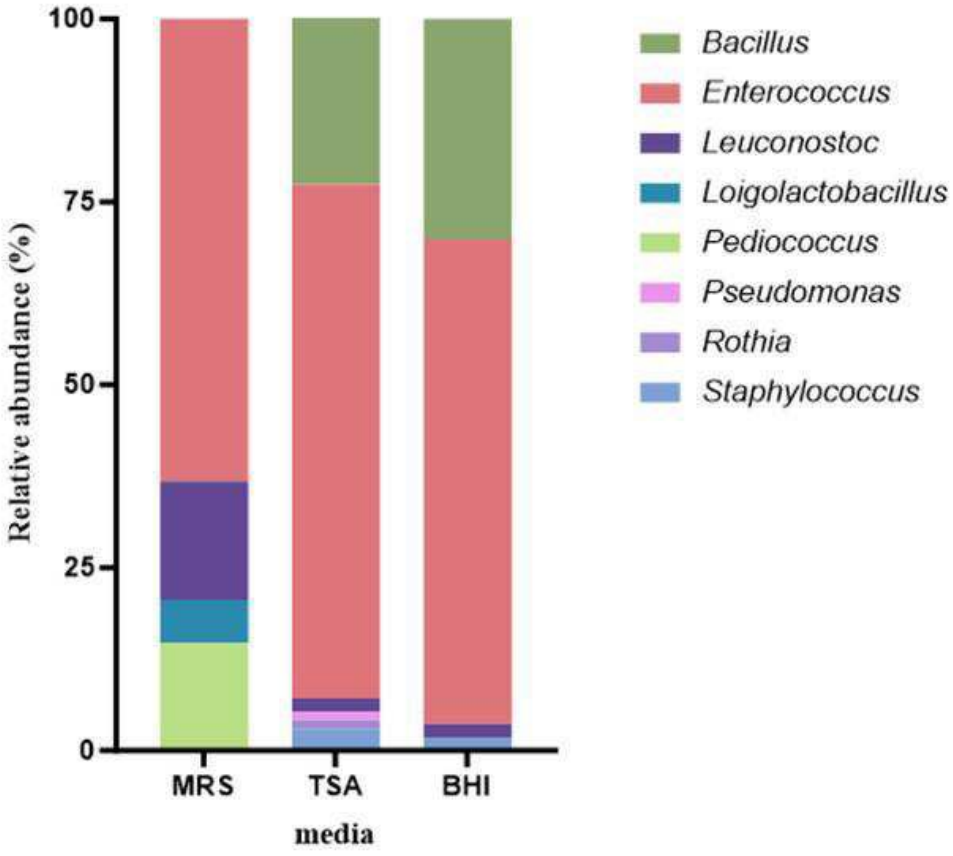
수탁일자 : 20231103

도면

도면1


100
75
50
25
0
Relative abundance (%)
메주
된장
간장
Bacillus
Enterococcus
Lactobacillus
Lactococcus
Leuconostoc
Oceanobacillus
Pediococcus
Pseudomonas
Weissella
Dietzia
Planococcus
Halomonas
Hyphomonadaceae
Nitriliruptoraceae
Acinetobacter
Aliidiomarina
Rhizobiaceae
Nesterenkonia

도면2


100
75
50
25
0
Relative abundance (%)
MRS
TSA
BHI
media
Bacillus
Enterococcus
Leuconostoc
Loigolactobacillus
Pediococcus
Pseudomonas
Rothia
Staphylococcus

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.