



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0042407  
(43) 공개일자 2018년04월25일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C12N 1/20* (2006.01) *A23C 9/123* (2017.01)  
*A23K 10/18* (2017.01) *A23L 33/135* (2016.01)  
*A61K 35/747* (2014.01) *C12R 1/225* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*C12N 1/20* (2013.01)  
*A23C 9/1234* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7008642
- (22) 출원일자(국제) 2016년08월30일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2018년03월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2016/070381
- (87) 국제공개번호 WO 2017/037046  
국제공개일자 2017년03월09일
- (30) 우선권주장  
15183198.9 2015년08월31일  
유럽특허청(EPO)(EP)

- (71) 출원인  
시에이치알, 한센 에이/에스  
덴마크 디케이-2970 호르솔름 보게 알레 10-12
- (72) 발명자  
닐슨, 세실리 리케 마비크  
덴마크 브로엔소에 2700 1. 테이호 아케스볼드바  
이 13  
흔백, 티나  
덴마크 비어커로드 3460 로브야크 6  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
박장원

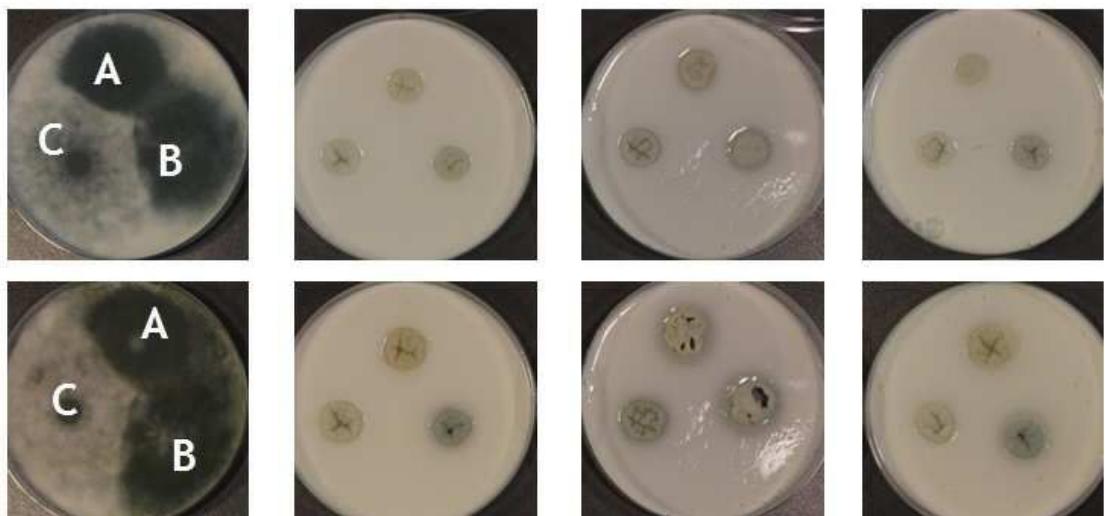
전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 발명의 명칭 항진균 활성을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아

### (57) 요약

본 발명은 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀(*Penicillium solitum*)의 종식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀(*Penicillium brevicompactum*)의 종식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀(*Lactobacillus fermentum*) 종의 박테리움에 관한 것이다. 상기 억제 활성은 다  
(뒷면에 계속)

### 대 표 도 - 도1



음을 포함하는 분석법으로 결정될 수 있다: (1) 다음에 의해 밸효유 제품을 제조하는 것: (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것, (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 밸효시키는 것, 및 (c) 한천을 첨가하여 밸효유를 고화시키는 것; (2) 한천 고화된 밸효유에 P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤 팩텀의 적어도 하나의 점을 500 포자/점의 농도로 생성시키고, 25°C에서 7일 동안 인큐베이션시키는 것; (3) P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤 팩텀의 증식에 의해 형성된 콜로니의 최대 직경을 결정하고, 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 없는 것을 제외하고는 동일한 조건하에 형성된 최대 직경에 대한 백분율로서 직경을 나타냄으로써 억제 백분율을 결정하는 것. 또한, 본 발명은 상기 박테리움을 포함하는 조성물, 상기 박테리움을 사용하여 밸효유 제품을 제조하는 방법, 및 그 결과 얻은 제품에 관한 것이다.

## (52) CPC특허분류

**A23K 10/18** (2016.05)  
**A23L 33/135** (2016.08)  
**A61K 35/747** (2013.01)  
**A23V 2002/00** (2013.01)  
**A23V 2200/10** (2013.01)  
**A23Y 2220/35** (2013.01)  
**C12R 1/225** (2013.01)

## (72) 발명자

**라스무센, 피아**

덴마크 뢰도우레 2610 몰러루프바이 5

**풀슨, 론**

덴마크 투엘루세 4340 운루세 홀백바이 31

**엑하르트, 토마스**

덴마크 비어커로드 3460 피어바肯 11

**오에가르드, 구나**

덴마크 배얼루세 3500 가멜 하르스코바이 243

**모하담, 일라해 가니**

덴마크 글로스트럽 2600 추어네히스네 10

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀(*Penicillium solitum*)의 증식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀(*Penicillium brevicompactum*)의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀(*Lactobacillus fermentum*) 종의 박테리움.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력은 다음을 포함하는 분석법으로 결정되는 것인 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움:

(1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

- (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,
- (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및
- (c) 한천을 첨가하여 발효유를 고화시키는 것;

(2) 한천 고화된 발효유에 *P. 솔리텀* 또는 *P. 브레비콤팩텀*의 적어도 하나의 점을 500 포자/점(spores/spot)의 농도로 생성시키고, 25°C에서 7일 동안 인큐베이션시키는 것;

(3) *P. 솔리텀* 또는 *P. 브레비콤팩텀*의 증식에 의해 형성된 콜로니의 최대 직경을 결정하고, 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 없는 것을 제외하고는 동일한 조건하에 형성된 최대 직경에 대한 백분율로서 직경을 나타냄으로써 억제 백분율을 결정하는 것.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 박테리움은 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물(starter culture)에 의해 생성되는 아세트알데히드의 농도를 적어도 50% 감소시키는 능력을 갖는 것인 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 박테리움은 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데히드의 농도를 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 95% 또는 적어도 98% 감소시키는 능력을 갖고, 아세트알데히드의 농도는 다음을 포함하는 분석법으로 결정되는 것인 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움:

(1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

- (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,
- (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및

(2) 발효유 제품을  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 14일 동안 저장하는 것;

(3) 1 g의 발효유 제품에  $200 \mu\ell$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가하고, 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피에 의해 아세트알데히드의 농도를 결정하는 것.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 박테리움은 디아세틸을 0 내지 5 ppm 범위로 분비하는 것인 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움.

**청구항 6**

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 박테리움은 디아세틸을 0 내지 5 ppm 범위로 분비하고, 디아세틸의 농도는 다음을 포함하는 분석법으로 결정되는 것인 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움:

(1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

- (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,
- (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및

(2) 발효유 제품을  $7\pm1^\circ\text{C}$ 에서 14일 동안 저장하는 것;

(3) 1 g의 발효유 제품에  $200 \mu\text{l}$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가하고, 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피에 의해 디아세틸의 농도를 결정하는 것.

**청구항 7**

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 박테리움은, 락토바실러스 퍼멘텀을 함유하지 않는 동일한 스타터 배양물로 발효된 유제품에 비하여, 발효 후 저장 중에 락토바실러스 퍼멘텀을 포함하는 발효유 제품의 pH를 증가시키는 것을 특징으로 하는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움.

**청구항 8**

제7항에 있어서, pH 증가는 적어도 0.1의 값인 것인 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움.

**청구항 9**

제7항 또는 제8항에 있어서, pH 증가는  $25^\circ\text{C}$ 에서 21일에 걸쳐 발효 제품을 저장한 후 결정되는 것인 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 하나의 항에 있어서, 락토바실러스 퍼멘텀을 포함하는 발효유 제품은  $25^\circ\text{C}$ 에서 적어도 14일 동안 저장시, pH를 4.0 보다 높게 유지하고, 여기서 상기 발효유 제품은 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것, pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 발효 제품을 흔들고 냉각시키는 것을 포함하는 방법을 통해 얻은 것임을 특징으로 하는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움.

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 박테리움은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움:

- (a) 수탁번호 DSM32084의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (b) 수탁번호 DSM32085의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (c) 수탁번호 DSM32086의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (d) 수탁번호 DSM32087의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (e) 수탁번호 DSM32088의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (f) 수탁번호 DSM32089의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (g) 수탁번호 DSM32090의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (h) 수탁번호 DSM32091의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (i) 수탁번호 DSM32096의 락토바실러스 퍼멘텀 균주;
- (j) 수탁번호 DSM22584의 락토바실러스 퍼멘텀 균주; 또는

(k) (a) 내지 (j)에 따른 기탁된 박테리아 중 하나에서 얻을 수 있는 돌연변이 균주로서, 상기 돌연변이는 DSMZ에 수탁번호 32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 또는 수탁번호 32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖고, 이 능력은 다음을 포함하는 분석법으로 결정됨:

(1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

(a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,

(b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및

(c) 한천을 첨가하여 발효유를 고화시키는 것;

(2) 한천 고화된 발효유에 P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 적어도 하나의 점을 500 포자/점의 농도로 생성시키고, 25°C에서 7일 동안 인큐베이션시키는 것;

(3) P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 증식에 의해 형성된 콜로니의 최대 직경을 결정하고, 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 없는 것을 제외하고는 동일한 조건하에 형성된 최대 직경에 대한 백분율로서 직경을 나타냄으로써 억제 백분율을 결정하는 것.

## 청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 따른 락토바실러스 퍼멘텀 균주를 적어도 하나 포함하는 조성물.

## 청구항 13

제12항에 있어서, 상기 조성물은 다음 중에서 선택된 적어도 하나의 박테리움을 추가로 포함하는 것인 조성물:

(a) 수탁번호 DSM32092로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC15860;

(b) 수탁번호 DSM23035로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC5366;

(c) 수탁번호 DSM24616로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC12697;

(d) 수탁번호 DSM24651로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 파라카세이 균주 CHCC12777; 및

(e) 수탁번호 DSM25612로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 파라카세이 균주 CHCC14676.

## 청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, 적어도 하나의 동결방지 화합물을 추가로 포함하는 것인 조성물.

## 청구항 15

제12항 내지 제13항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 조성물은 동결물질 g당 적어도  $10^9$  콜로니 형성 단위의 농도, 또는 동결물질 g당 적어도  $10^{10}$  콜로니 형성 단위의 농도, 또는 동결물질 g당 적어도  $10^{11}$  콜로니 형성 단위의 농도로 유산균을 포함하는, 고형동결된 또는 동결건조된 스타터 배양물인 것인 조성물.

## 청구항 16

제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 따른 락토바실러스 퍼멘텀 박테리움 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 하나의 항에 따른 조성물을 우유 또는 유제품에 첨가시키는 것, 및 이 혼합물을 4.6 미만의 pH에 도달할 때까지 약 22°C 내지 약 43°C의 온도에서 발효시키는 것을 포함하는 발효유 제품의 제조방법.

## 청구항 17

제16항에 있어서, 제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 따른 락토바실러스 퍼멘텀 박테리움 또는 제12항 내지 제13항 중 어느 하나의 항에 따른 조성물을 우유 또는 유제품에 첨가시키는 것, 및 이 혼합물을 다음 방식으로 발효시키는 것을 포함하는 방법:

(a) 제1항에 기재된 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아의 농도는 발효유 제품의 발효 종료시 적어도  $1 \times 10^6$  cfu/g 또는 적어도  $1 \times 10^7$  cfu/g이 되도록 함; 및/또는

(b) 제1항에 기재된 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아의 농도는 발효유 제품의 표면에서 적어도  $1 \times 10^5$  cfu/cm<sup>2</sup> 이 되도록 함.

### 청구항 18

제16항 또는 제17항에 따른 발효유 제품의 제조방법을 포함하는 식품, 사료 또는 의약품의 제조방법.

### 청구항 19

제18항에 기재된 제조방법에 의해 얻을 수 있는 식품, 사료 또는 의약품.

### 청구항 20

제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 따른 선택된 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움 및 다음 중 하나 이상을 포함하는 식품, 사료 또는 의약품:

- (a) 다음의 속 중 하나 이상으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 박테리움: 락토코쿠스 종, 스트렙토코쿠스 종, 락토바실러스 종, 류코노스톡 종, 수도류코노스톡 종, 페디오코쿠스 종, 브레비박테리움 종, 및 엔터로코쿠스 종;
- (b) 수탁번호 DSM32092로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC15860;
- (c) 수탁번호 DSM23035로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC5366;
- (d) 수탁번호 DSM24616로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC12697;
- (e) 수탁번호 DSM24651로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 파라카세이 균주 CHCC12777; 및
- (f) 수탁번호 DSM25612로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 파라카세이 균주 CHCC14676.

### 청구항 21

제16항 또는 제17항에 기재된 방법에 의해 얻을 수 있는 발효물.

### 청구항 22

제21항에 있어서, 상기 발효물은 액체인 것인 발효물.

### 청구항 23

제21항 또는 제22항에 따른 발효물을 식품, 사료 또는 의약품에 첨가시키는 것을 포함하는 식품, 사료 또는 의약품의 제조방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 항진균 활성을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀(*Lactobacillus fermentum*) 박테리아, 상기 박테리아를 함유하는 조성물, 특히 상기 박테리아를 함유하는 보조 배양물, 상기 박테리아 또는 배양물을 사용하여 발효유 제품을 제조하는 방법, 그 결과 얻어진 식품, 사료 및 의약품을 비롯한 발효유 제품에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 유산균(LAB)은 수십년 동안 식품의 저장 기간을 늘리기 위해 사용되어 왔다. 발효 중에 LAB는 발효 제품의 pH를 감소시키는 원인이 되는 젖산 뿐만 아니라 다른 유기산을 생성한다. 산성 pH를 갖는 제품은 병원균 및 잡균(spoilage bacteria)을 비롯한 대부분의 미생물의 추가 증식을 지원하지 않는다. 그러나, 효모 및 곰팡이의 증식은 낮은 pH의 영향을 받지 않으며, 종종 발효유 제품에 손상을 일으킨다.

[0003] 유기산을 생성하는 것 외에도 일부 LAB는 항균 활성, 특히 항진균 활성을 갖는 대사산물을 생성한다.

[0004] 예를 들어, 유럽특허출원 EP0221499는 오이 주스가 보충된 한천 배지에서 배양될 경우 상이한 곰팡이의 증식을 억제할 수 있는 락토바실러스 람노수스 (*Lactobacillus rhamnosus*) NRRL-B-15972의 항진균 특성을 기술한다. 유

사하게, 유럽특허출원 EP0576780은 카세인 가수분해물 및 효모 추출물이 보충된 락토세럼계 배지에서 페니실린 (*Penicillium*), 클라도스포리움 (*Cladosporium*), 푸사리움 (*Fusarium*) 및 칸디다 (*Candida*)의 증식을 억제하는 것으로 보이는 락토바실러스 람노수스 LC-705에 관한 것이다. 유럽특허출원 EP1442113은 항균 효과를 갖는, 프로피오니박테리움 젠세니 (*Propionibacterium jensenii*)와 락토바실러스 종, 예컨대 락토바실러스 람노수스와의 혼합물, 및 생체보호에 대한 이들의 용도를 기술한다. 유럽특허출원 EP13717237은 항진균 효과를 갖는 락토바실러스 파라카세이 (*Lactobacillus paracasei*) 균주를 기술하고, 유럽특허출원 EP13714671은 항진균 효과를 갖는 락토바실러스 람노수스 균주를 기술한다.

- [0005] 항진균 효과가 있는 LAB의 개요 및 빵 및 과일의 보호를 위한 이들의 용도에 대해서는 Gerez 등의 문헌(2013)에 제공된다.
- [0006] 또한, 항진균 효과를 갖는 배양물은 상업적으로 이용가능하며, Chr. Hansen의 FreshQ® 배양물 뿐만 아니라 Dupont의 SACCO 및 Bioprox의 배양물을 포함한다. 항진균 효과를 갖는 배양물의 개발은 큰 과제인데, 이는 진정한 식품 분야에서 유의한 항진균 효과를 제공하는 배양물의 동정(identification)을 요구하기 때문이다. 생체보호 배양물 후보의 선택에 있어서 주의 깊은 평가가 요구되는 또 다른 하나의 요인은 식품의 감각적 특성에 대한 영향이다. 시판되는 제품에서 확인되어온 문제는 후산성화(post acidification)의 정도, 즉 제품이 원하는 pH에 도달한 후 배양에 의한 산성화의 지속 정도이다. 이는 고온 보관 온도, 제품 냉각 전 또는 성숙 단계 중에 발효탱크에서 발효 제품을 보관하는 중에 문제를 일으킨다.
- [0007] 상업용 생체보호 배양물은 원치 않는 향미(flavor) 영향으로 인식될 수 있는 '크림 같은(creamy)' 향미를 유발하는 과도한 디아세틸(diacetyl) 향미 성분을 생성하는 것으로 생각되었다 (Aunsgberg et al., 2015).
- [0008] 결과적으로, 항진균 효과 및 최소한의 향미 영향을 갖는, 새롭고 유리한 식품 등급의 박테리아 여전히 필요하다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

#### 과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀 (*Penicillium solitum*)의 증식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀 (*Penicillium brevicompactum*)의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리아를 제공한다.
- [0010] 발효 제품의 제조방법에서 생체보호 균주로 사용되는 경우 유의한 항진균 효과 및 추가적 이점을 제공하는 락토바실러스 퍼멘텀 균주의 새로운 그룹이 동정되었다. 총 10종의 상이한 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 것으로 동정되었다.
- [0011] 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀은 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물(starter culture)에 의해 생성되는 아세트알데히드의 농도를 적어도 50% 감소시키는 능력을 갖는 것을 추가적 특징으로 할 수 있다.
- [0012] 관련된 일 구현예에서, 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 이 박테리움이 디아세틸을 단지 작은 양, 예컨대 0 내지 5 ppm 범위로 분비하는 것을 추가적 특징으로 할 수 있다.
- [0013] 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는, 락토바실러스 퍼멘텀을 함유하지 않는 동일한 스타터 배양물로 발효된 유제품에 비하여, 발효 후 저장 중에 락토바실러스 퍼멘텀을 포함하는 발효유 제품의 pH를 증가시키는 것을, 대안적 또는 추가적 특징으로 할 수 있다.
- [0014] 따라서, 본 발명은 상술한 바와 같은 박테리아, 이를 포함하는 조성물, 이 박테리아를 이용하여 발효유 제품을 제조하는 방법, 및 이로부터 얻은 제품을 제공한다.

#### 도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 스타터 배양물 단독으로(기준물(reference), 첫번째 컬럼), FreshQ®4(두번째 컬럼), Holdbac® YM-C Plus(세번째 컬럼) 또는 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591(네번째 컬럼)과 함께 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은 7±1°C에서 19일 동안(윗열) 및 27일 동안(아랫열) 인

큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물을 500 포자/점(spores/spot)의 농도로 첨가하였다: (A) *P. 카르네움*(*P. carneum*), (B) *P. 파니움*(*P. paneum*) 및 (C) *P. 로크포르티*(*P. roqueforti*).

도 2는 스타터 배양물 단독으로(기준물, 첫번째 컬럼), FreshQ®4(두번째 컬럼), Holdbac® YM-C Plus(세번째 컬럼) 또는 Lb. 페멘텀 CHCC14591(네번째 컬럼)과 함께 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 6일 동안(윗열) 및 11일 동안(아랫열) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다: (A) *P. 카르네움*, (B) *P. 파니움* 및 (C) *P. 로크포르티*.

도 3은 스타터 배양물 단독으로(기준물, 첫번째 컬럼), FreshQ®4(두번째 컬럼), Holdbac® YM-C Plus(세번째 컬럼) 또는 Lb. 페멘텀 CHCC14591(네번째 컬럼)과 함께 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 19일 동안(윗열) 및 27일 동안(아랫열) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다: (A)페니실리움 브레비콤팩텀, (B) *P. 크루스토섬*(*P. crustosum*), 및 (C) *P. 솔리텀*(*P. solitum*).

도 4는 스타터 배양물 단독으로(기준물, 첫번째 컬럼), FreshQ®4(두번째 컬럼), Holdbac® YM-C Plus(세번째 컬럼) 또는 Lb. 페멘텀 CHCC14591(네번째 컬럼)과 함께 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 6일 동안(윗열) 및 11일 동안(아랫열) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다: (A)페니실리움 브레비콤팩텀(DSM32093), (B) *P. 크루스토섬*, 및 (C) *P. 솔리텀*(DSM32093).

도 5는 스타터 배양물 단독으로(기준물, 첫번째 컬럼), FreshQ®4(두번째 컬럼), Holdbac® YM-C Plus(세번째 컬럼) 또는 Lb. 페멘텀 CHCC14591(네번째 컬럼)과 함께 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 효모의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 11일 동안(윗열) 또는  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 5일 동안(아랫열) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물을  $1 \times 10^3$  cfu/spot (윗열),  $1 \times 10^2$  cfu/spot (중간열) 및  $1 \times 10^1$  cfu/spot (아랫열)의 농도로 첨가하였다: (A) 토룰라스포라 델브루에키(*Torulaspora delbrueckii*), (B) 크립토코쿠스 한세니(*Cryptococcus hansenii*), (C) 디바리오미세스 한세니(*Debaromyces hansenii*) 및 (D) 야로위아 리포리티카(*Yarrowia lipolytica*).

도 6은 스타터 배양물 단독(기준물)으로, 또는 FreshQ®4, Holdbac® YM-C Plus 또는 Lb. 페멘텀 CHCC14591과 조합된 스타터 배양물로 발효된 발효유 제품에서  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 14일간 저장 후 디아세틸 수준을 도시한 것이다. LOD: 검출 한계. LOQ: 정량 한계.

도 7은 스타터 배양물 단독으로(기준물, 첫번째 컬럼), Lb. 람노수스 CHCC15860(두번째 컬럼), Lb. 페멘텀 CHCC14591(세번째 컬럼) 또는 Lb. 람노수스 CHCC15860과 Lb. 페멘텀 CHCC14591의 조합물(네번째 컬럼)과 함께 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 5일 동안 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다: (A) *P. 카르네움*, (B) *P. 파니움* 및 (C) *P. 로크포르티*.

도 8은 (1) 스타터 배양물 단독으로, (2) Lb. 페멘텀 CHCC12798, (3) Lb. 페멘텀 CHCC12797, (4) Lb. 페멘텀 CHCC14591, (5) Lb. 페멘텀 CHCC14588, (6) Lb. 페멘텀 CHCC15844, (7) Lb. 페멘텀 CHCC15865, (8) Lb. 페멘텀 CHCC15847, (9) Lb. 페멘텀 CHCC15848, (10) Lb. 페멘텀 CHCC15926, 및 (11) Lb. 페멘텀 CHCC2008과 함께 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 5일 동안 (사진의 왼쪽 컬럼) 또는 7일 동안(사진의 오른쪽 컬럼) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다: (A)페니실리움 브레비콤팩텀(DSM32094), (B) *P. 크루스토섬*, 및 (C) *P. 솔리텀*(DSM32093).

도 9는 스타터 배양물 단독(기준물)으로, 또는 FreshQ®4, Holdbac® YM-C Plus 또는 Lb. 페멘텀 균주와 조합된 스타터 배양물로 발효된 발효유 제품에서  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 14일간 저장 후 디아세틸 수준을 도시한 것이다. LOD: 검출 한계. LOQ: 정량 한계.

도 10은 (A)  $7\pm1^{\circ}\text{C}$  및 (B)  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 28일 동안 저장시, 시간에 따른 발효유 제품 중의 pH 변화를 도시한다. 제품들은 스타터 배양물 단독으로(기준물), 또는 FreshQ®4, Holdbac® YM-C Plus 또는 Lb. 페멘텀 균주와 조합된 스타터 배양물로 발효된다.

도 11은 (A)  $7\pm1^{\circ}\text{C}$  및 (B)  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 21일 동안 저장시, 시간에 따른 발효유 제품 중의 pH 변화를 도시한다.

제품들은 스타터 배양물 단독으로(기준물, Δ), 또는 FreshQ®4(◇), Holdbac® YM-C Plus(o) 또는 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591(□)와 조합된 스타터 배양물로 발효된다.

도 12는 스타터 배양물 단독(기준물)으로, 또는 FreshQ®4, Holdbac® YM-C Plus 또는 Lb. 퍼멘텀 균주와 조합된 스타터 배양물로 발효된 발효유 제품에서  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 14일간 저장 후 아세트알데히드 수준을 도시한 것이다. LOD: 검출 한계. LOQ: 정량 한계.

도 13은 스타터 배양물 단독(기준물)으로, 또는 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591과 조합된 스타터 배양물로 발효된 발효유 제품에서  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 14일간 저장 후 아세트알데히드 수준을 도시한 것이다. LOD: 검출 한계. LOQ: 정량 한계.

도 14는  $43^{\circ}\text{C}$ 의 우유(1% 지방 및 4.5% 단백질)에서 증식한 4가지 시판되는 스타터 배양물 FD-DVS YF-L812, F-DVS YF-L901, F-DVS YoFlex Mild 2.0 및 F-DVS CH-1의 산성화 곡선을 도시한다.

도 15는  $6^{\circ}\text{C}$ 에서 43일 동안 저장 후 4가지 시판되는 스타터 배양물 FD-DVS YF-L812, F-DVS YF-L901, F-DVS YoFlex Mild 2.0 및 F-DVS CH-1 중 하나로 발효된 요거트의 후산성화 곡선을 도시한다.

도 16은 (1) 스타터 배양물 FD-DVS YF-L812 단독으로, (2) Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, (3) Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, (4) Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, (5) Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, (6) Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, (7) Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, (8) Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, (9) Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 (10) Lb. 퍼멘텀 CHCC2008과 함께 상기 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 4일 동안 (사진의 왼쪽 컬럼) 또는 8일 동안(사진의 오른쪽 컬럼) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물인 P. 브레비콤팩텀(DSM32094)을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다.

도 17은 (1) 스타터 배양물 F-DVS CH-1 단독으로, (2) Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, (3) Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, (4) Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, (5) Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, (6) Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, (7) Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, (8) Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, (9) Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 (10) Lb. 퍼멘텀 CHCC2008과 함께 상기 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 4일 동안 (사진의 왼쪽 컬럼) 또는 8일 동안(사진의 오른쪽 컬럼) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물인 P. 브레비콤팩텀(DSM32094)을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다.

도 18은 (1) 스타터 배양물 FD-DVS YF-L812 단독으로, (2) Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, (3) Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, (4) Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, (5) Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, (6) Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, (7) Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, (8) Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, (9) Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 (10) Lb. 퍼멘텀 CHCC2008과 함께 상기 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 4일 동안 (사진의 왼쪽 컬럼) 또는 8일 동안(사진의 오른쪽 컬럼) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물인 P. 솔리텀(DSM32093)을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다.

도 19는 (1) 스타터 배양물 F-DVS CH-1 단독으로, (2) Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, (3) Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, (4) Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, (5) Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, (6) Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, (7) Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, (8) Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, (9) Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 (10) Lb. 퍼멘텀 CHCC2008과 함께 상기 스타터 배양물로 발효된 우유로부터 얻어진 플레이트 상의 곰팡이의 증식을 도시한다. 플레이트들은  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 4일 동안 (사진의 왼쪽 컬럼) 또는 8일 동안(사진의 오른쪽 컬럼) 인큐베이션시킨 것이다. 표적 오염물인 P. 솔리텀(DSM32093)을 500 포자/점의 농도로 첨가하였다.

도 20은 스타터 배양물 FD DVS YF-L812 또는 F-DVS CH-1 단독(기준물)으로, 또는 9가지 Lb. 퍼멘텀 균주 중 하나와 조합된 스타터 배양물로 발효된 발효유 제품에서  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 14일간 저장 후 디아세틸 수준을 도시한 것이다. LOD: 검출 한계. LOQ: 정량 한계.

도 21은 스타터 배양물 FD DVS YF-L812 또는 F-DVS CH-1 단독(기준물)으로, 또는 9가지 Lb. 퍼멘텀 균주 중 하나와 조합된 스타터 배양물로 발효된 발효유 제품에서  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 14일간 저장 후 아세트알데히드 수준을 도시한 것이다. LOD: 검출 한계. LOQ: 정량 한계.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 발명은 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움을 제공한다. 좋기로는, 본 발명은, 우유 또는 우유기반 기질, 예컨대 발효유 제품에서 증식할 경우, 수탁번호

DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움에 관한 것이다. 진균의 증식을 억제하는 능력은 이 분야에 공지된 수많은 분석법에 의해 결정될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력은 좋기로는 다음을 포함하는 분석법을 사용하여 결정된다:

[0017] (1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

[0018] (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,

[0019] (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및

[0020] (c) 한천을 첨가하여 발효유를 고화시키는 것;

[0021] (2) 한천 고화된 발효유에 P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 적어도 하나의 점을 500 포자/점(spores/spot)의 농도로 생성시키고, 25°C에서 7일 동안 인큐베이션시키는 것;

[0022] (3) P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 증식에 의해 형성된 콜로니의 최대 직경을 결정하고, 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 없는 것을 제외하고는 동일한 조건하에 형성된 최대 직경에 대한 백분율로서 직경을 나타냄으로써 억제 백분율을 결정하는 것.

[0023] 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 이들 박테리아로 제조된 식품의 저장 안정성을 증가시키므로 특히 이점이 있다. 일 대안에서, 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 및 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제한다. 관련된 일 구현예에서, 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 및/또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 60%, 적어도 70% 또는 적어도 75% 억제한다.

[0024] 상기 분석에서 동정된 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주의 적어도  $10^7$  CFU/g의 농도는 탁월한 항진균 효과를 제공하는 농도를 나타낸다는 것을 이해하여야 한다. 따라서, 본 발명은 적어도  $10^7$  CFU/g의 농도, 예컨대  $10^7$  CFU/g 내지  $10^{11}$  CFU/g,  $10^7$  CFU/g 내지  $10^{10}$  CFU/g, 및  $10^7$  CFU/g 내지  $10^9$  CFU/g의 농도로 락토바실러스 퍼멘텀 균주를 포함하지만, 본 발명은 더 낮은 농도에서도 우수한 항진균 효과가 얻어지기 때문에 이를 농도에 한정되지 않는다.

[0025] 일 측면에 따르면, 본 발명의 박테리아는 식품의 감각 특성에 영향을 주는, 휘발성 화합물을 소량 분비하거나 또는 본질적으로 분비하지 않는 것을 추가적 특징으로 한다. 일반적인 스타터 배양물, 예컨대 스트렙토코쿠스 씨모필러스(*Streptococcus thermophilus*)와 락토바실러스 멜브루엑키 아종 불가리커스(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)의 상업적으로 이용가능한 혼합물은 발효 제품의 감각 특성에 유의하게 기여하는 휘발성 화합물을 생성하는 것으로 알려져 있다. 예를 들어, 아세트알데히드, 디아세틸 및 아세토인은 식품의 감각 특성에 영향을 주는 공지된 휘발성 화합물이다. 관련된 일 구현예에서, 본 발명의 박테리아는 스타터 배양물에서 다른 박테리아에 의해 생성되는 아세트알데히드의 존재를 감소시키는 것을 특징으로 한다. 예를 들어, 본 발명의 특정 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데히드의 농도를 적어도 50% 감소시키는 능력을 갖는 것을 추가적 특징으로 할 수 있다. 따라서, 이러한 감소는 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주 없이 생성되는 발효 제품과 비교하여 결정된다. 발효 제품에서 아세트알데히드의 농도를 결정하기 위하여 상이한 분석법들이 알려져 있는데, 이들은 본 발명에 따른 목적을 위하여 사용될 수 있다. 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데히드의 농도를 적어도 50% 감소시키는 능력은 좋기로는 다음을 포함하는 분석법에 의해 결정된다:

[0026] (1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

[0027] (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,

[0028] (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및

[0029] (2) 발효유 제품을  $7\pm1^\circ\text{C}$ 에서 14일 동안 저장하는 것;

[0030] (3) 1 g의 발효유 제품에  $200 \mu\ell$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가하고, 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피에 의해 아세트

알데히드의 농도를 결정하는 것.

[0031] 아세트알데히드는 유산균에 의해 생성되는 맛 성분이다. 이 성분은 특정 용도에서는 바람직하지만, 다른 용도에서는 아세트알데히드의 존재를 감소시키거나 피하는 것이 유리할 것이다. 따라서, 발효유 제품에서 아세트알데히드의 농도를 감소시키는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아는 순한(mild) 또는 달게 만든(sweetened) 요거트의 제조시와 같은 특정 용도에서 이점을 제공한다. 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 예를 들어, 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데히드의 농도를 적어도 75%, 적어도 95% 또는 적어도 98% 감소시킬 수 있다.

[0032] 대안적으로 또는 추가적으로, 본 발명의 특정 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 박테리움이 디아세틸을 0 내지 5 ppm의 범위로 분비하는 것을 특징으로 할 수 있다. 디아세틸의 분비는 당업계에 공지된 상이한 분석법들을 사용하여 결정될 수 있으나, 좋기로는 다음을 포함하는 분석법으로 결정된다:

[0033] (1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

[0034] (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,

[0035] (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및

[0036] (2) 발효유 제품을  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 14일 동안 저장하는 것;

[0037] (3) 1 g의 발효유 제품에  $200 \mu\ell$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가하고, 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피에 의해 디아세틸의 농도를 결정하는 것.

[0038] 고농도의 이들 휘발성 화합물을 생성하는 항진균 활성을 발휘하는 다른 균주는 최종 제품의 맛에 영향을 주므로 모든 용도에 사용될 수는 없기 때문에, 저농도의 디아세틸을 분비하는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아는 이들 박테리아를 사용하여 식품을 제조하는 방법에 있어 이점을 갖는다. 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 박테리움이 디아세틸을 0 내지 3 ppm 또는 0 내지 2 ppm 범위로 분비하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0039] 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 추가적인 유리한 효과를 특징으로 할 수 있다. 예를 들어, 이 균주는, 락토바실러스 퍼멘텀을 함유하지 않은 동일한 스타터 배양물로 발효된 유제품과 비교하여, 발효 후 저장 중에 락토바실러스 퍼멘텀을 포함하는 발효유 제품의 pH를 증가시키는 것(즉, 후산성화에 반대로 작용함)을 특징으로 할 수 있다. pH 증가는 적어도 0.1의 값이며, 좋기로는 25°C에서 21일에 걸쳐 발효 제품을 저장한 후 결정된다. 상기한 바와 같이, 종래 기술의 항진균 박테리아는 후산성화에 기여하는 것을 관찰되었다. 본 발명자들은 놀랍게도 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 후산성화에 기여하지 않을 뿐만 아니라, pH 값을 증가시킴으로써 실제로 후산성화에 길항한다(antagonize)는 것을 발견하였다. 하기의 실시예에 나타낸 바와 같이, 이러한 효과는, 상업적으로 이용 가능한 다수의 스타터 배양물을 비롯하여 유의한 후산성화를 나타내는 스타터 배양물을 사용하는 발효 공정에서, 및 특히 시판되는 항진균 박테리아와 함께 사용될 경우, 특히 주목할 만하다.

[0040] 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 예를 들어, 락토바실러스 퍼멘텀 균주를 함유하지 않는 동일한 스타터 배양물로 발효된 유제품과 비교하여, 발효 후 저장 중에 락토바실러스 퍼멘텀을 포함하는 발효유 제품의 pH를 증가시키는 것을 특징으로 할 수 있으며, 여기서 pH 증가는 적어도 0.1의 값이며, 좋기로는 25°C에서 21일에 걸쳐 발효 제품을 저장한 후 결정되고, 여기서 스타터 배양물은 발효 중에 유제품의 pH를 10시간 이내에 pH 4.6 값으로 감소시킬 수 있는 LAB을 포함한다. 예를 들어, 분석은 스트렙토코쿠스 씨모필러스와 락토바실러스 델브루액키 아종 불가리커스의 혼합물을 기반으로 할 수 있다. 각 혼합물은 요거트의 제조에 자주 사용되며, 후산성화를 일으키는 것으로 알려져 있다.

[0041] 관련 일 구현예에서, 락토바실러스 퍼멘텀을 포함하는 발효유 제품은 25°C에서 적어도 14일 동안 저장시, pH를 4.0 보다 높게 유지하며, 여기서 발효유 제품은 우유에 락토바실러스 퍼멘텀을 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 접종하고 스타터 배양물을 접종하는 것, pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 발효 제품을 흔들고 냉각시키는 것을 포함하는 방법을 통해 얻은 것이다. 따라서, 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주는 종래 기술의 생체보호 배양물 및 심지어 통상적인 스타터 배양물에서 발견되는 후산성화 효과를 감소시킨다. 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 25°C에서 적어도 14일 동안 저장시, pH를 4.0 보다 높게 유지한다는 특징은 단지 그 효과를 결정하는데 일반적으로 사용하는 분석법을 특징짓는다는 것을 알아야 한다. 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 균주, 및 이를 포함하는 식품 또는 사료를 비롯한 조성물을 사실 이러한 조건 하에 저장될 필요가 없거나 요구되지 않는다. 다시, 일 측면에서, 분석은 발효 중에 유제품의 pH를 10시간 이내에 pH 4.6 값으로 감소시킬 수 있는 LAB

을 포함하는 스타터 배양물을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 분석은 스트렙토코쿠스 씨모필러스와, 락토바실러스 델브루액키 아종 불가리커스의 혼합물들을 기반으로 할 수 있다.

[0042] 본 발명의 박테리아는 유리하게는 다음의 기탁된 균주 중 하나로부터 유래될 수 있다:

[0043] (a) 수탁번호 32084로 독일생물자원센터(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH; DSMZ, Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC12798;

[0044] (b) 수탁번호 32085로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC12797;

[0045] (c) 수탁번호 32086로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC14591;

[0046] (d) 수탁번호 32087로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC14588;

[0047] (e) 수탁번호 32088로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15844;

[0048] (f) 수탁번호 32089로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15865;

[0049] (g) 수탁번호 32090로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15847;

[0050] (h) 수탁번호 32091로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15848;

[0051] (i) 수탁번호 32096로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15926;

[0052] (j) 수탁번호 22584로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC2008;

[0053] (k) (a) 내지 (j)에 따른 기탁된 박테리아 중 하나에서 얻을 수 있는 돌연변이 균주로서, 상기 돌연변이는 DSMZ에 수탁번호 32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 또는 수탁번호 32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력을 다음을 포함하는 분석법에서 나타낸다:

[0054] (1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

[0055] (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,

[0056] (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및

[0057] (c) 한천을 첨가하여 발효유를 고화시키는 것;

[0058] (2) 한천 고화된 발효유에 P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 적어도 하나의 점을 500 포자/점의 농도로 생성시키고, 25°C에서 7일 동안 인큐베이션시키는 것;

[0059] (3) P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 증식에 의해 형성된 콜로니의 최대 직경을 결정하고, 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 없는 것을 제외하고는 동일한 조건하에 형성된 최대 직경에 대한 백분율로서 직경을 나타냄으로써 억제 백분율을 결정하는 것.

[0060] 본 발명의 맥락에서, "유산균" 또는 "LAB"라는 용어는 탄수화물 발효의 주요 대사 최종 산물로서 젖산을 생성하는 식품-등급 박테리아를 지칭하기 위해 사용된다. 이들 박테리아는 일반적인 대사 및 생리학적 특징과 관련이 있으며, 보통 그램 양성, 낮은 GC, 산성 내성, 비포자성(non-sporulating), 비호흡성, 막대모양의 간균 또는 구균이다. 발효 단계 중에, 이들 박테리아에 의한 락토오스의 소비는 젖산의 형성을 유발하여 pH를 감소시키고 단백질 응고물의 형성을 유도한다. 따라서, 이들 박테리아는 우유의 산성화 및 유제품의 질감에 대하여 책임이 있다. 본 명세서에서 사용된, "유산균"이라는 용어는 락토바실러스 종, 비피도박테리움 종, 스트렙토코쿠스 종, 락토코쿠스 종, 예컨대 락토바실러스 델브루액키 아종 불가리커스, 스트렙토코쿠스 씨모필러스, 락토바실러스 락티스, 비피도박테리움 앤리말리스(*Bifidobacterium animalis*), 락토코쿠스 락티스, 락토바실러스 파라카세이(*Lactobacillus paracasei*), 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 헬베티카스(*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 아시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*), 비피도박테리움 브레베(*Bifidobacterium breve*) 및 류코노스톡(*Leuconostoc*) 종의 속(genus)에 속하는 박테리아를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0061] 전파를 위한 최적의 온도에 따라, LAB은 중온성(mesophilic) 또는 호열성(thermophilic) LAB로 특징지어진다. "중온성"이라 함은 중간 온도에서 가장 잘 번식하는 미생물을 의미한다. 본원에서 "중온성 발효"라 함은 약 22°C 내지 약 35°C의 온도에서의 발효를 의미한다. "중온성 발효유 제품"이라 함은 중온성 스타터 배양물의 중온성 발효에 의해 제조된 발효유 제품을 의미하며, 버터우유, 사워 밀크(sour milk), 배양 우유, 스메타나

(smetana), 사워 크림 및 후레쉬 치즈, 예컨대 퀴크, 트바로크(tvarog) 및 크림 치즈와 같은 발효유 제품을 포함한다. 산업적으로 가장 유용한 중온성 박테리아는 락토코쿠스 종 및 류코노스톡 종을 포함한다.

[0062] "호열성"이라 함은 고온에서 가장 잘 번식하는 미생물을 의미한다. "호열성 발효"라 함은 약 35°C 내지 약 45°C의 온도에서의 발효방법을 의미한다. "호열성 발효유 제품"이라 함은 호열성 스타터 배양물을 사용하여 호열성 발효에 의해 제조된 발효유 제품을 의미하며, 세트형 요거트(set-yoghurt), 스터드형 요거트(stirred-yoghurt), 스트레이드 요거트 및 드링킹 요거트와 같은 발효유 제품을 포함한다. 산업적으로 가장 유용한 호열성 박테리아는 스트렙토코쿠스 종 및 락토바실러스 종을 포함한다.

[0063] 아래에 약술되는 바와 같이, 본 발명은 중온성 및 호열성 발효를 이용하는 방법을 포함한다.

[0064] 진균, 효모 및 곰팡이와 관련하여 "억제하다(inhibit)"라 함은 예를 들어, 본 발명의 박테리아를 포함하는 식품 및/또는 식품의 표면에 있어서, 그러한 박테리아를 포함하지 않는 식품과 비교하여, 중식 또는 포자형성의 감소 또는 진균, 효모 및 곰팡이 수의 감소 또는 농도의 감소를 의미한다. 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아에 의해 제공되는 억제의 정도는 좋기로는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아가 존재 및 부재할 때 한천 고화된 발효유 상의 중식에 의해 결정된다.

[0065] 본 발명의 맥락에서, "돌연변이"라 함은 예컨대 유전 공학, 방사선 및/또는 화학적 처리에 의해 본 발명의 균주로부터 유래된 균주로 이해되어야 한다. 좋기로는, 돌연변이는 기능적으로 동등한 돌연변이, 예컨대 특히 항진균 특성에 있어서 기탁된 균주와 실질적으로 동일하거나 개선된 특성을 갖는 돌연변이이다. 이러한 돌연변이는 본 발명의 일부이다. 특히, "돌연변이"라 함은 본 발명의 균주에 화학적 돌연변이 유발원, 예컨대 에탄 메탄 설포네이트(EMS) 또는 N-메틸-N'-니트로-N-니트로구아니딘(NTG), 자외선으로 처리하는 것을 포함하는 통상적으로 사용되는 돌연변이 유발 처리를 수행함으로써 얻은 균주, 또는 자발적으로 발생하는 돌연변이를 의미한다. 돌연변이는 몇 가지 돌연변이 유발 처리를 받았을 수 있으나 (단일 처리는 스크리닝/선택 단계가 뒤따르는 하나의 돌연변이 유발 단계로 이해되어야 함), 20 개 이하, 또는 10개 이하, 또는 5개 이하의 처리(또는 스크리닝/선택 단계)가 수행되는 것이 현재 바람직하다. 현재 바람직한 돌연변이에서, 모 균주와 비교할 때, 박테리아 계놈 중 뉴클레오티드의 5% 미만, 또는 1% 미만, 또는 0.1% 미만이 다른 뉴클레오티드에 의해 읊겨졌거나, 결실되었다.

[0066] 본 발명을 설명하는 맥락에서 (특히 하기 청구항의 맥락에서), 용어 "하나(a)" 및 "하나(an)" 및 "그(the)" 및 유사한 지시자의 사용은 본 명세서에 달리 표시하지 않는 한, 또는 문맥에서 분명하게 부정하지 않는 한 단수 및 복수를 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0067] 본 발명은 전술한 분석에서 한천 고화된 발효유 상의 수탁번호 32093으로 DSMZ에 기탁된 진균 폐니실리움 솔리텀 CHCC16948의 중식, 또는 수탁번호 32094로 DSMZ에 기탁된 진균 폐니실리움 브레비콤팩텀 CHCC16935의 중식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 적어도 하나의 박테리움을 포함하는 조성물을 제공한다.

[0068] 각각의 조성물은 LAB을 비롯한 수많은 추가 박테리아를 포함할 수 있다. 따라서, 본 발명의 바람직한 조성물은 다음의 속 및 종 중의 하나 이상에서 선택된 적어도 하나의 박테리움을 추가로 포함하는 것을 특징으로 한다: 락토바실러스 종, 비피도박테리움 종, 스트렙토코쿠스 종, 락토코쿠스 종, 예컨대 락토바실러스 멜브루액키 아종 불가리커스, 스트렙토코쿠스 씨모필러스, 락토바실러스 락티스, 비피도박테리움 아니말리스, 락토코쿠스 락티스, 락토바실러스 파라카세이, 락토바실러스 플란타룸, 락토바실러스 헬베티커스, 락토바실러스 아시도필러스, 비피도박테리움 브레베 및 류코노스톡 종.

[0069] 특히 바람직한 일 구현예에서, 본 발명의 조성물은 전술한 바와 같은 항진균 활성을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 적어도 하나의 박테리움 및 항진균 활성을 갖는 하나 이상의 제2 박테리움을 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명의 항진균 활성을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아의 몇 가지 상이한 균주는 조합된다. 대안적으로, 이를 추가 박테리아는 예를 들어 다음으로부터 선택될 수 있다:

[0070] (a) 수탁번호 DSM32092로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC15860;

[0071] (b) 수탁번호 DSM23035로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC5366;

[0072] (c) 수탁번호 DSM24616로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC12697;

[0073] (d) 수탁번호 DSM24651로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 파라카세이 균주 CHCC12777; 및

[0074] (e) 수탁번호 DSM25612로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 파라카세이 균주 CHCC14676.

- [0075] 본 발명자들은 단독으로 사용된 각 균주의 억제 효과와 비교하여, 이들 균주에 대한 부가적인 항진균 효과 및 *Lb.* 람노수스 CHCC15860와 *Lb.* 퍼멘텀 CHCC14591의 조합에 의한 놀라운 항진균 상승효과를 발견하였다.
- [0076] 본 발명의 조성물은 하나 이상의 동결방지 화합물 및 향미 화합물을 비롯하여 수많은 추가 성분을 추가로 포함할 수 있다.
- [0077] LAB은 스타터 배양물의 형태로 우유에 가장 일반적으로 첨가된다. 본 발명의 맥락에서 사용된 용어 "스타터" 또는 "스타터 배양물"은 하나 이상의 식품-등급 미생물, 특히 우유 재료의 산성화에 책임이 있는 유산균의 배양물을 의미한다. 스타터 배양물은갓 만든(fresh) 것일 수 있으나, 대부분은 자주 동결되거나 동결건조된다. 이들 제품은 "다이렉트 배트 세트(Direct Vat Set: DVS)" 배양물이라고도 알려져 있으며, 발효유 제품 또는 치즈와 같은 유제품의 제조를 위해 발효 용기 또는 배트(vat)의 직접 접종을 위해 제조된다. 각각의 스타터 배양물은 많은 공급원으로부터 상업적으로 이용가능하며, Chr. Hansen으로부터 상업적으로 이용가능한 스트렙토코쿠스 씨 모필러스와 락토바실러스 뎔브루액키 아종 불가리커스의 혼합물을 함유하는 4가지 배양물, F-DVS YoFlex Mild 2.0, F-DVS YF-L901, FD-DVS YF-812 및 F-DVS CH-1을 포함한다.
- [0078] 따라서, 일 측면에서, 본 발명은 동결물질 g당 적어도  $10^9$  콜로니 형성 단위의 농도, 또는 동결물질 g당 적어도  $10^{10}$  콜로니 형성 단위의 농도, 또는 동결물질 g당 적어도  $10^{11}$  콜로니 형성 단위의 농도로 유산균을 포함하는, 고형 동결된 또는 동결건조된 스타터 배양물 형태의 조성물을 제공하며, 이들 조성물은 전술한 바와 같은 항진균 활성을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움을 포함한다.
- [0079] 또한, 본 발명은 상기 특징들 중 둘 이상을 특징으로 하는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아 및 이를 포함하는 조성물을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움을 제공하며, 이 능력을 다음을 포함하는 분석법에서 결정된다:
- [0080] (1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:
- [0081] (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,
- [0082] (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및
- [0083] (c) 한천을 첨가하여 발효유를 고화시키는 것;
- [0084] (2) 한천 고화된 발효유에 *P.* 솔리텀 또는 *P.* 브레비콤팩텀의 적어도 하나의 점을 500 포자/점의 농도로 생성시키고, 25°C에서 7일 동안 인큐베이션시키는 것;
- [0085] (3) *P.* 솔리텀 또는 *P.* 브레비콤팩텀의 증식에 의해 형성된 콜로니의 최대 직경을 결정하고, 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 없는 것을 제외하고는 동일한 조건하에 형성된 최대 직경에 대한 백분율로서 직경을 나타냄으로써 억제 백분율을 결정하는 것;
- [0086] 및, 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움이 디아세틸을 0 내지 5 ppm 범위로 분비하는 것을 추가적 특징으로 하고, 여기서 디아세틸의 농도는 다음을 포함하는 분석법에서 결정된다:
- [0087] (4) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:
- [0088] (a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,
- [0089] (b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및
- [0090] (5) 발효유 제품을  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 14일 동안 저장하는 것;
- [0091] (6) 1 g의 발효유 제품에 200  $\mu\text{l}$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가하고, 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피에 의해 디아세틸의 농도를 결정하는 것.
- [0092] 이들 박테리아는 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데히드의 농도를 적어도 50% 감소시키는 능력을 갖는 것을 추가적 특징으로 할 수 있다.
- [0093] 대안적으로 또는 추가적으로, 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리아는 락토바실러스 퍼멘텀을 함유하지 않은 동일한 스타터 배양물로 발효된 유제품과 비교하여, 발효 후 저장 중에 락토바실러스 퍼멘텀을 포함하는 발효유 제

품의 pH를 증가시키는 것을 추가적 특징으로 할 수 있다.

[0094] 다른 일 구현예에서, 본 발명은 수탁번호 DSM32093으로 기탁된 진균 페니실리움 솔리텀의 증식, 또는 수탁번호 DSM32094로 기탁된 진균 페니실리움 브레비콤팩텀의 증식을 적어도 50% 억제하는 능력을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리움을 제공하며, 이 능력은 다음을 포함하는 분석법에서 결정된다:

(1) 다음에 의해 발효유 제품을 제조하는 것:

(a) 우유에 적어도  $10^7$  CFU/g 농도로 락토바실러스 퍼멘텀을, 및 스타터 배양물을 접종하는 것,

(b) pH가 4.6에 도달할 때까지 발효시키는 것, 및

(c) 한천을 첨가하여 발효유를 고화시키는 것;

(2) 한천 고화된 발효유에 P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 적어도 하나의 점을 500 포자/점의 농도로 생성시키고, 25°C에서 7일 동안 인큐베이션시키는 것;

(3) P. 솔리텀 또는 P. 브레비콤팩텀의 증식에 의해 형성된 콜로니의 최대 직경을 결정하고, 락토바실러스 퍼멘텀 균주가 없는 것을 제외하고는 동일한 조건하에 형성된 최대 직경에 대한 백분율로서 직경을 나타냄으로써 억제 백분율을 결정하는 것;

및 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리움은 락토바실러스 퍼멘텀을 함유하지 않은 동일한 스타터 배양물로 발효된 유제품과 비교하여, 발효 후 저장 중에 락토바실러스 퍼멘텀을 포함하는 발효유 제품의 pH를 증가시키는 것을 추가적 특징으로 할 수 있는데, 여기서 pH 증가는 적어도 0.1의 값이며, pH 증가는 25°C에서 21일에 걸쳐 발효 제품을 저장한 후 결정된다. 다시, 일 구현예에서, 이들 박테리아는 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데히드의 농도를 적어도 50% 감소시키는 능력을 추가로 가질 수 있다.

[0102] 추가적 일 구현예에서, 본 발명은 전술한 바와 같은 항진균 활성을 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리움 또는 이를 포함하는 조성물을 우유 또는 유제품에 첨가하고 이 혼합물을 4.6 미만의 pH에 도달할 때까지 약 22°C 내지 약 43°C의 온도에서 발효시키는 것을 포함하는 발효유 제품의 제조방법을 제공한다.

[0103] 본원의 맥락에서, "우유(milk)"라 함은 동물의 유선 또는 식물에 의해 생성된 액체를 지칭하는 일반적인 의미로 광범위하게 사용된다. 본 발명에 따르면, 우유는 가공된 것일 수 있고, "우유"는 전유, 탈지유, 무지방 우유, 저지방 우유, 전지방 우유, 락토오스 저감(lactose-reduced) 우유, 또는 농축 우유를 포함한다. 저지방 우유는 전형적으로 약 1% 내지 약 2% 지방을 함유한 우유로 정의된다. 전지방 우유는 종종 2% 이상의 지방을 함유한다. "우유"라는 용어는 다른 포유동물 및 식물 원천으로부터 얻은 우유를 포함하도록 의도된다. 우유의 포유류 원천으로는 암소, 양, 염소, 벼팔로, 낙타, 라마, 암말 및 사슴이 있지만 이에 한정되지는 않는다. 우유의 식물 원천으로는 콩, 완두콩, 땅콩, 보리, 쌀, 귀리, 퀴노아, 아몬드, 캐슈, 코코넛, 헤이즐넛, 대마, 참깨 및 해바라기씨에서 추출된 우유가 있지만 이에 한정되지는 않는다. 본 발명의 방법 및 제품에서 암소에서 유래된 우유는 가장 좋기로는 발효를 위한 출발 물질로 사용된다.

[0104] "우유"라는 용어는 또한 지방 저감 및/또는 락토오스 저감 유제품을 포함한다. 각각의 제품은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제조될 수 있고, (예를 들어, 미국 텍사스의 셀렉트 밀크 Select Milk Producers Inc.로부터) 상업적으로 이용가능하다. 락토오스 저감 우유는, 락타아제 효소에 의해 락토오스를 글루코오스 및 갈락토오스로 가수분해하거나, 또는 전기투석, 이온교환 크로마토그래피 및 원심분리에 의해 당업계에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0105] 본원에서 "유제품" 또는 "우유 재료"는 LAB의 증식 및 발효를 위한 배지로 사용될 수 있는 우유 또는 우유 성분에 기반한 조성물을 지칭하는 것으로 광범위하게 사용된다. 유제품 또는 우유 재료는 우유 및 LAB를 증식하거나 발효하기 위한 목적으로 사용될 수 있는 다른 성분에서 유래한 성분을 포함한다.

[0106] 발효유 제품을 생산하는 공정의 발효 단계는 LAB을 우유에 첨가시키는 것을 포함한다. 유제품의 제조시 사용되는 발효 공정은 잘 알려져 있으며, 통상의 기술자는 온도, 산소, 미생물(들)의 양과 특성 및 발효 시간을 비롯한 발효 공정 조건을 선택할 수 있다.

[0107] 발효에 앞서, 우유 기질은 당업계에 공지된 방법에 따라 균질화 및 저온살균될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 "균질화(homogenizing)"는 가용성 혼탁액 또는 에멀젼을 얻기 위한 강력한 혼합을 의미한다. 발효에 앞서 균질화가 수행될 경우, 우유 지방을 더 작은 크기로 분해하여 더 이상 우유에서 분리되지 않게 하기 위하여 수행될 수 있다. 이는 작은 구멍들(orifices)을 통해 고압에서 우유에 힘을 가함으로써 달성될 수 있다. 본 명세서에서

"저온살균(pasteurizing)"이라 함은 미생물과 같이 살아있는 유기체의 존재를 감소시키거나 제거하기 위한 우유 기질의 처리를 의미한다. 좋기로는, 저온살균은 특정 기간의 시간 동안 특정 온도를 유지함으로써 달성된다. 특정 온도는 보통 가열에 의해 달성된다. 온도 및 지속시간은 유해 박테리아와 같은 특정 박테리아를 죽이거나 비활성화시키기 위하여 선택될 수 있다. 급속 냉각 단계가 이어질 수 있다.

[0108] 본 발명의 특히 유리한 방법에서, 전술한 바와 같은 항진균 효과를 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리움 또는 이를 포함하는 조성물은 우유 또는 유제품에 첨가되고, 이 혼합물은 다음 방식으로 발효된다:

[0109] (a) 항진균 효과를 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아의 농도는 발효유 제품의 발효 종료시 적어도  $1 \times 10^6$  cfu/g 또는 적어도  $1 \times 10^7$  cfu/g임; 및/또는

[0110] (b) 항진균 효과를 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아의 농도는 발효유 제품의 표면에서 적어도  $1 \times 10^5$  cfu/cm<sup>2</sup> 이 되도록 함.

[0111] 이러한 방식의 진행은 락토바실러스 퍼멘텀 박테리움의 항진균 효과를 완전히 사용할 수 있는 장점을 갖는다.

[0112] 농축을 달성하는 한가지 방법은, 발효 중에 전술한 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아의 농도가 증가하도록 발효를 위한 파라미터가 유지되는 발효유 제품의 제조방법을 사용하는 것이다. (실시예에 기술된 바와 같이) 발효를 위한 통상적인 스타터 배양물 및 조건을 사용하면, 발효 중에 전술한 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아의 농도가 일반적으로 적어도 0.5 log 만큼 증가할 것이다. 대안적으로, 발효를 위한 파라미터는, 발효 및 저장 중에 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아의 농도가 유의하게 감소하지 않도록, 예를 들어 30% 이하, 25% 이하, 또는 20% 이하 만큼 감소되도록 유지된다.

[0113] 또한, 본 발명은 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아를 갖는 유제품을 발효시킴으로써 얻을 수 있는 발효물(fermentate)을 제공한다. 발효물이라는 용어는 발효 제품을 지칭하기 위하여 사용된다. 각 발효물은 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아를 사용하는 발효 공정으로부터 얻어진 액체일 수 있다. 이 액체는 박테리아를 함유할 수 있으나, 이를 함유할 필요는 없다. 이 액체는 좋기로는 본 발명의 락토바실러스 퍼멘텀 박테리아에 의해 생성되는 항진균 대사산물을 함유한다. 발효물은 식품, 사료 또는 의약품을 제조하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 발효물은 항진균 효과를 얻기 위하여 식품 또는 사료 제품에 분무될 수 있다.

[0114] 또한, 본 발명은 전술한 바와 같은 발효유 제품의 제조방법을 포함하는 제조하는 방법을 포함하는 식품, 사료 또는 의약품의 제조방법 및 이 방법에 의해 얻을 수 있는 식품, 사료 또는 의약품을 제공한다.

[0115] 발효는 식품, 사료 제품 또는 의약품을 제조하기 위하여 수행된다. "발효유 제품", "식품" 또는 "사료" 제품일 함은 본 발명의 발효 방법에 의해 얻을 수 있는 제품을 의미하며, 치즈, 요거트, 과일 요거트, 요거트 음료, 스트레인드 요거트(그릭 요거트, Labneh), 퀴크, 프로마쥬 프레이(fromage frais) 및 크림 치즈를 포함한다. 식품이라는 용어는 발효 소시지와 같은 발효 육류, 및 발효 생선 제품을 비롯한 기타 발효 식품을 더 포함한다.

[0116] "치즈"라는 용어는 경질 치즈, 반경질 치즈, 연질 치즈, 예컨대 다음 유형의 치즈를 비롯한 모든 치즈를 포함하는 것으로 이해된다: 카티지(Cottage), 페타, 체다, 파마산, 모짜렐라, 에멘탈, 단보, 고다, 에담, 페타형, 블루 치즈, 브라인 치즈, 까망베르 및 브리. 당업자는 응고물을 치즈로 전환하는 방법을 알고 있으며, 이를 방법은 문헌에서 찾을 수 있다 (예컨대, Kosikowski, F. V., and V. V. Mistry, "Cheese and Fermented Milk Foods", 1997, 3rd Ed. F. V. Kosikowski, L. L. C. Westport, CT). 본 명세서에서 사용된 바와 같이, NaCl 농도가 1.7% (w/w) 미만인 치즈는 "저염 치즈"로 지칭된다.

[0117] 본원의 맥락에서, "요거트"라 함은 스트렙토코쿠스 씨모필러스 및 락토바실러스 렐브루액키 아종 불가리커스, 및 선택적으로 다른 미생물, 예컨대 락토바실러스 렐브루액키 아종 락티스, 비피도박테리움 아니말리스 아종 락티스, 락토코쿠스 락티스, 락토바실러스 아시도필러스 및 락토바실러스 파라카세이, 또는 이들로부터 유래된 미생물을 포함하는 제품을 의미한다. 스트렙토코쿠스 씨모필러스 및 락토바실러스 렐브루액키 아종 불가리커스 이외의 유산균 균주는 플로라의 평형을 증진시키는 특성과 같은 다양한 특성을 완제품에 제공하기 위하여 포함된다. 본 명세서에서 사용된 "요거트"라는 용어는 세트형 요거트, 스터드형 요거트, 드링킹 요거트, 푸티 스위스(Petit Suisse), 열처리된 요거트, 스트레인드 또는 고단백질 농도의 특징이 있는 그릭 스타일 요거트 및 요거트-유사 제품을 포함한다.

[0118] 특히, "요거트"라는 용어는 프랑스 및 유럽 규정에 따라 정의된 요거트, 예컨대 동시에 배양되고 최종 제품에 적어도 1000만 CFU (콜로니 형성 단위:colony-forming unit)/g의 양으로 살아있는 것으로 밝혀진, 특정 호열성

유산균(즉, 락토바실러스 뎔브루액키 아종 불가리커스 및 스트렙토코쿠스 씨모필러스)만으로 유산 발효하여 얻은 응고된 유제품을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다. 요거트는 첨가된 유제품 원료(예컨대, 크림) 또는 설탕 또는 감미료, 하나 이상의 향료, 과일, 시리얼과 같은 기타 성분, 또는 영양 물질, 특히 비타민, 미네랄 및 섬유질, 뿐만 아니라 안정제 및 중점제를 선택적으로 함유할 수 있다. 선택적으로, 요거트는 AFNOR NF 04-600 표준 및/또는 codex StanA-11a-1975 표준의 발효유 및 요거트의 규격을 충족한다. AFNOR NF 04-600 표준을 충족시키기 위하여, 제품을 발효 후 가열해서는 안되고, 유제품 원료는 완제품의 최소 70% (m/m)를 나타내야 한다.

[0119] 추가적 일 구현예에서, 본 발명은 전술한 바와 같은 항진균 효과를 갖는 락토바실러스 퍼멘텀 종의 박테리아를 하나 이상 포함하는 식품, 사료 또는 의약품을 제공하며, 상기 박테리아는 다음 중 하나 이상이다:

[0120] (a) 다음의 속 중 하나 이상으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 박테리움: 락토코쿠스 종, 스트렙토코쿠스 종, 락토바실러스 종, 류코노스톡 종, 수도류코노스톡 종, 페디오코쿠스 종, 브레비박테리움 종, 및 엔터로코쿠스 종;

[0121] (b) 수탁번호 DSM32092로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC15860;

[0122] (c) 수탁번호 DSM23035로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC5366;

[0123] (d) 수탁번호 DSM24616로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC12697;

[0124] (e) 수탁번호 DSM24651로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 파라카세이 균주 CHCC12777; 및

[0125] (f) 수탁번호 DSM25612로 독일생물자원센터(DSMZ)에 기탁된 락토바실러스 파라카세이 균주 CHCC14676.

#### 실시예 1:

[0127] 서로 상이한 효모 및 곰팡이 오염물 및 디아세틸 생성에 대한 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591의 억제 효과의 반(semi)정량 분석

[0128] Lb. 퍼멘텀 CHCC14591의 억제 효과의 반정량분석을 위하여, 요거트 제조 공정 및 제품과 유사한 한천-분석을 사용하였다:

[0129] 저지방(1.5% w/v) 균질 우유를  $90 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 20분 동안 열처리하고 즉시 냉각시켰다. 시판되는 스타터 배양물(F-DVS Mild 2.0)을 0.02% (v/w)로 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 1개의 병에 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591을  $2 \times 10^7$  CFU/g의 총 농도로 접종하였고, 2개의 병에 각각 2가지 시판되는 생체보호 배양물(FreshQ®4 및 Holdbac® YM-C Plus) 중 하나를 권장 용량(FreshQ®4 및 Holdbac® YM-C Plus에 대하여 각각 100U/T 및 20 DCU/100L)으로 접종하였고, 1개의 병을 기준물(reference)로 사용하여 스타터 배양물만을 접종하였다. 모든 병을  $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가  $4.60 \pm 0.1$ 에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 후, 병을 격렬히 흔들어서 응고물을 파괴하고 얼음에서 냉각시켰다. 발효유를  $40^\circ\text{C}$  온도로 가온하고, 여기에, 미리 녹여서  $60^\circ\text{C}$ 로 냉각시킨 5% 무균 한천 용액 40 ml를 첨가하였다. 상기 발효유와 한천의 용액을 무균 페트리 접시에 붓고, 이 플레이트를 LAF 벤치에서 30분 동안 건조시켰다.

[0130] 6가지 서로 상이한 곰팡이의 포자 혼탁액을 500 포자/점의 농도로 스팟팅(spotting)하였다; 페니실리움 브레비 콤팩텀(DSM32094), P. 크루스토섬(*P. crustosum*), P. 솔리텀(*P. solitum*)(DSM32093), P. 카르네움(*P. carneum*), P. 파니움(*P. paneum*), 및 P. 로크포르티(*P. roqueforti*). 3가지 곰팡이를 각 플레이트에 스팟팅하였다. 토룰라스포라 뎔브루액키(*Torulaspora delbrueckii*), 크립토코쿠스 한세니(*Cryptococcus hansenii*), 디바리오미세스 한세니(*Debaryomyces hansenii*) 및 야로위아 리포리티카(*Yarrowia lipolytica*)를 포함하는 4가지 효모를  $10^4$ ,  $10^3$  및  $10^2$  CFU/spot 농도로 스팟팅하였다. 플레이트를  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  및  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 인큐베이션시키고, 곰팡이 및 효모의 증식을 정기적으로 검사하였다.

[0131] 제14일(day 14)에 복잡한 매트릭스에서 휘발성물질을 분석하기 위한 민감한 방법인 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피(HSGC)를 통해 디아세틸에 대하여 샘플을 분석하였다. 설정은 불꽃 이온화 검출기(FID)가 있는 가스 크로마토그래피에 연결된 정적 헤드스페이스 샘플러로 구성되었다. 그 목적을 위해 다음의 장비가 사용되었다:

[0132] HS-오토샘플러: HS40XI, TurboMatrix 110, Perkin Elmer.

- [0133] HS-소프트웨어: HSControl v.2.00, Perkin Elmer.
- [0134] GC: Autosystem XL, Perkin Elmer.
- [0135] GC-소프트웨어: Turbochrom navigator, Perkin Elmer.
- [0136] 컬럼: HP-FFAP 25 m x 0.20 mm x 0.33  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies
- [0137] 알려진 농도의 표준물질을 사용하여 반응 계수(보정)을 결정하였고, 사용된 반응 계수가 하나의 분석 시리즈 내에서 뿐만 아니라 시리즈들 간에서 및 시간(개월)에 따라 안정하도록 조절하기 위하여 대조군(controls)이 사용되었다. 샘플 및 대조군 내 휘발성물질의 농도(ppm)를 표준물질에서 나온 반응 계수를 사용하여 결정하였다. 1 g의 요거트 샘플에 200  $\mu\text{l}$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가함으로써 샘플을 준비하고, 즉시 HSGC로 분석하였다.
- [0138] 스타터 배양물로만 발효된 우유(기준물)로 만든 한천 플레이트에서 모든 시험된 곰팡이가 아주 잘 증식했음을 보여주는, 한천-분석의 결과를 도 1-5에 나타내었다. 그러나, Lb. 페멘텀 CHCC14591이 우유 발효시 존재할 경우, 얻어진 플레이트는 모든 검사된 페니실리움 종의 증식을 억제하였다. 억제 수준은 상기 2가지 시판되는 생체보호 배양물에서 관찰된 억제 수준과 유사하거나 더 높았다. 도 3은 모든 시험된 효모가 스타터 배양물만으로 발효된 우유(기준물)로 만든 한천 플레이트에서 증식했음을 보여준다. Lb. 페멘텀 CHCC14591이 우유 발효시 존재할 경우, 얻어진 플레이트는 모든 농도로 첨가된 C. 프라지올라(*C. fragiola*) 및 Y. 리포리티카의 증식을 방지하였다. T. 델브루엑키 및 D. 한세니의 증식은 Lb. 페멘텀 CHCC14591이 우유 발효시 존재할 경우 더 낮은 농도에서 억제되었다. 억제 수준은 상기 2가지 시판되는 생체보호 배양물에서 관찰된 억제 수준과 유사하거나 더 높았다.
- [0139] 디아세틸 생성에 대한 효과를 도 6에 도시하였는데, 이는 우유 발효시 Lb. 페멘텀 CHCC14591의 첨가가 상업적으로 이용가능한 대안들과 비교할 때 최소량의 디아세틸을 생성한다는 것을 보여준다.
- [0140] 실시예 2:
- [0141] 서로 상이한 곰팡이 오염물에 대한, Lb. 람노수스 CHCC15860과 조합된 Lb. 페멘텀 CHCC14591의 억제 효과의 반정량분석
- [0142] Lb. 페멘텀 CHCC14591 및 Lb. 람노수스 CHCC15860의 억제 효과의 반정량분석을 위하여, 요거트 제조 공정 및 제품과 유사한 한천-분석을 사용하였다:
- [0143] 저지방(1.5% w/v) 균질 우유를  $90 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 20분 동안 열처리하고 즉시 냉각시켰다. 시판되는 스타터 배양물(F-DVS Mild 2.0)을 0.02% (v/w)로 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 1개의 병에 Lb. 람노수스 CHCC15860을  $2 \times 10^7$  CFU/g의 총 농도로 접종하였고, 1개의 병에 Lb. 페멘텀 CHCC14591을  $2 \times 10^7$  CFU/g의 총 농도로 접종하였고, 1개의 병에 Lb. 페멘텀 CHCC14591 및 Lb. 람노수스 CHCC15860을 각각  $5 \times 10^6$  CFU/g의 농도로 접종하였고, 1개의 병을 기준물로 사용하여 스타터 배양물만을 접종하였다. 모든 병을  $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가  $4.60 \pm 0.1$ 에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 후, 병을 격렬히 흔들어서 응고물을 파괴하고 열음에서 냉각시켰다. 발효유를  $40^\circ\text{C}$  온도로 가온하고, 여기에, 미리 녹여서  $60^\circ\text{C}$ 로 냉각시킨 5% 무균 한천 용액 40 ml를 첨가하였다. 상기 발효유와 한천의 용액을 무균 페트리 접시에 붓고, 이 플레이트를 LAF 벤치에서 30분 동안 건조시켰다.
- [0144] 3가지 서로 상이한 곰팡이의 포자 혼탁액을 500 포자/접시의 농도로 스팽팅하였다; P. 카르네움, P. 파니움, 및 P. 로크포르티. 3가지 곰팡이를 각 플레이트에 스팽팅하였다. 플레이트를  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 인큐베이션시키고, 곰팡이의 증식을 정기적으로 검사하였다.
- [0145] 스타터 배양물로만 발효된 우유(기준물)로 만든 한천 플레이트에서 모든 시험된 곰팡이가 아주 잘 증식했음을 보여주는, 한천-분석의 결과를 도 7에 나타내었다. 그러나, Lb. 람노수스 15860 또는 Lb. 페멘텀 CHCC14591이 우유 발효시 존재할 경우, 얻어진 플레이트는 검사된 3가지 페니실리움 종의 증식을 억제하였다. 더구나, Lb. 람노수스 CHCC15860과 Lb. 페멘텀 CHCC14591의 조합 사용시, 각각 단독으로 사용될 경우의 억제 효과에 비해 상승적인 억제 효과가 발견되었다.
- [0146] 실시예 3:
- [0147] 서로 상이한 곰팡이 오염물에 대한, Lb. 페멘텀 균주의 억제 효과의 반정량분석

- [0148] Lb. 퍼멘텀 균주의 억제 효과의 반정량분석을 위하여, 요거트 제조 공정 및 제품과 유사한 한천-분석을 사용하였다:
- [0149] 저지방(1.5% w/v) 균질 우유를  $90 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 20분 동안 열처리하고 즉시 냉각시켰다. 시판되는 스타터 배양물(F-DVS YF-L901)을 0.02% (v/w)로 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 10개의 병에 Lb. 퍼멘텀 균주를  $1 \times 10^7$  CFU/g의 농도로 접종하였고, 1개의 병을 기준물로 사용하여 스타터 배양물만을 접종하였다. 모든 병을  $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가  $4.60 \pm 0.1$ 에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 후, 병을 격렬히 흔들어서 응고물을 파괴하고 얼음에서 냉각시켰다. 발효유를  $40^\circ\text{C}$  온도로 가온하고, 여기에, 미리 녹여서  $60^\circ\text{C}$ 로 냉각시킨 5% 무균 한천 용액 40 ml를 첨가하였다. 상기 발효유와 한천의 용액을 무균 페트리 접시에 붓고, 이 플레이트를 LAF 벤치에서 30분 동안 건조시켰다.
- [0150] 시험된 Lb. 퍼멘텀 균주는 다음과 같다: Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, Lb. 퍼멘텀 CHCC15848, Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 Lb. 퍼멘텀 CHCC2008.
- [0151] 6가지 서로 상이한 곰팡이의 포자 혼탁액을 500 포자/접의 농도로 스팟팅하였다; 페니실리움 브레비콤팩텀 (DSM32094), P. 크루스토섬, P. 솔리텀(DSM32093), P. 카르네움, P. 파니움, 및 P. 로크포르티. 3가지 곰팡이를 각 플레이트에 스팟팅하였다. 플레이트를  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 인큐베이션시키고, 곰팡이의 증식을 정기적으로 검사하였다.
- [0152] 제14일에 복잡한 매트릭스에서 휘발성물질을 분석하기 위한 민감한 방법인 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피를 통해 디아세틸에 대하여 샘플을 분석하였다. 설정은 불꽃 이온화 검출기(FID)가 있는 가스 크로마토그래피에 연결된 정적 헤드스페이스 샘플러로 구성되었다. 그 목적을 위해 다음의 장비가 사용되었다:
- [0153] HS-오토샘플러: HS40XI, TurboMatrix 110, Perkin Elmer.
- [0154] HS-소프트웨어: HSControl v.2.00, Perkin Elmer.
- [0155] GC: Autosystem XL, Perkin Elmer.
- [0156] GC-소프트웨어: Turbochrom navigator, Perkin Elmer.
- [0157] 컬럼: HP-FFAP 25 m x 0.20 mm x  $0.33 \mu\text{m}$ , Agilent Technologies.
- [0158] 알려진 농도의 표준물질을 사용하여 반응 계수 (보정)을 결정하였고, 사용된 반응 계수가 하나의 분석 시리즈 내에서 뿐만 아니라 시리즈들 간에서 및 시간(개월)에 따라 안정하도록 조절하기 위하여 대조군(controls)이 사용되었다. 샘플 및 대조군 내 휘발성물질의 농도(ppm)를 표준물질에서 나온 반응 계수를 사용하여 결정하였다. 1 g의 요거트 샘플에 200  $\mu\text{l}$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가함으로써 샘플을 준비하고, 즉시 HSGC로 분석하였다.
- [0159] 후산성화에 대한 효과를 모니터하기 위하여, 11개의 발효유 샘플(스타터 배양물 단독, 및 10가지 Lb. 퍼멘텀 균주와 조합된 스타터 배양물)을  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  및  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 28일 동안 저장하였고, pH는 제1일, 제7일, 제14일, 제21일 및 제28일에 측정하였다.
- [0160] 스타터 배양물로만 발효된 우유(기준물)로 만든 한천 플레이트에서 모든 시험된 곰팡이가 아주 잘 증식했음을 보여주는, 한천-분석의 결과를 도 8에 나타내었다. P. 브레비콤팩텀(DSM32094) 및 P. 솔리텀(DSM32093)에 있어서, 모든 Lb. 퍼멘텀 균주가 우유 발효 중에 존재할 경우, 증식이 크게 지연되었음이 관찰되었다. 시험된 나머지 곰팡이에 있어서, Lb. 퍼멘텀 균주가 우유 발효 중에 존재할 경우, 증식의 지연은 다양한 것으로 관찰되었다. Lb. 퍼멘텀 균주 CHCC14591는 본 분석에서 본질적으로 모든 시험된 곰팡이에 대하여 유의한 저해를 달성한다.
- [0161] 디아세틸 생성에 대한 효과를 도 9에 나타내었는데, 이 도면은 다음 각각의 항진균성 균주가 디아세틸을 전혀 분비하지 않거나 거의 분비하지 않음을 보여준다: Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, Lb. 퍼멘텀 CHCC15848, Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 Lb. 퍼멘텀 CHCC2008.
- [0162] 후산성화에 대한 효과를 도 10에 나타내었는데, 이 도면은 다음 각각의 균주가 후산성화에 기여하지 않거나, 심지어 기준 요거트에 비해 후산성화를 감소시킨다는 것을 보여준다: Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, Lb.

퍼멘텀 CHCC15847, Lb. 퍼멘텀 CHCC15848, Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 Lb. 퍼멘텀 CHCC2008.

[0163] 이러한 발견은, 선행기술의 항진균성 식품-등급 박테리아가 휘발성 화합물의 분비에 기여하고 스타터 배양물에 의해 야기되는 후산성화 효과를 증가시키는 것으로 관찰되었기 때문에, 예기치 못한 매우 유의한 것이다.

[0164] 실시예 4:

#### 후산성화에 대한 1가지 Lb. 퍼멘텀 균주의 효과

[0166] Lb. 퍼멘텀 균주 (CHCC14591)를 후산성화 효과에 대하여 시험하였다.

[0167] 저지방(1.5% w/v) 균질 우유를  $90 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 20분 동안 열처리하고 즉시 냉각시켰다. 시판되는 스타터 배양물(F-DVS Mild 2.0)을 0.02% (v/w)로 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 1개의 병에 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591를  $2 \times 10^7$  CFU/g의 총 농도로 접종하였고, 2개의 병에 각각 2가지 시판되는 생체보호 배양물(FreshQ®4 및 Holdbac® YM-C Plus) 중 하나를 권장 용량(FreshQ®4 및 Holdbac® YM-C Plus에 대하여 각각 100U/T 및 20 DCU/100L)으로 접종하였고, 1개의 병을 기준물로 사용하여 스타터 배양물만을 접종하였다. 모든 병을  $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가  $4.60 \pm 0.1$ 에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 후, 병을 격렬히 흔들어서 응고물을 파괴하고 얼음에서 냉각시켰다.

[0168] 후산성화에 대한 효과를 모니터하기 위하여, 4개의 발효유 샘플(스타터 배양물 단독, FreshQ®4, Holdbac® YM-C Plus 및 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591)을  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  및  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 21일 동안 저장하였고, pH는 제1일, 제7일, 제14일 및 제21일에 측정하였다.

[0169] 후산성화에 대한 효과를 도 11에 나타내었는데, 이 도면은 우유 발효 중에 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591의 첨가가 발효 유 제품의 후산성화를 방지한다는 것을 보여준다. 스타터 배양물 단독의 경우 약간의 후산성화가 이루어지고, 2 가지 시판되는 생체보호 배양물은 모두 후산성화에 기여한다.

[0170] 실시예 5:

#### 아세트알데히드 농도에 대한 10가지 Lb. 퍼멘텀 균주의 효과

[0172] 10가지 Lb. 퍼멘텀 균주를 아세트알데히드 함량을 낮추는 능력에 대하여 시험하였다.

[0173] 저지방(1.5% w/v) 균질 우유를  $90 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 20분 동안 열처리하고 즉시 냉각시켰다. 시판되는 스타터 배양물(F-DVS YF-L901 Yo-Flex®)을 0.02% (v/w)로 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 10개의 병에 Lb. 퍼멘텀 균주를  $1 \times 10^7$  CFU/g의 농도로 접종하였고, 1개의 병을 기준물로 사용하여 스타터 배양물만을 접종하였다. 모든 병을  $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가  $4.60 \pm 0.1$ 에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 후, 병을 격렬히 흔들어서 응고물을 파괴하고 얼음에서 냉각시켰다. 병들을  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 14일 동안 저장하였다.

[0174] 제14일에 복잡한 매트릭스에서 휘발성물질을 분석하기 위한 민감한 방법인 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피를 통해 아세트알데히드에 대하여 샘플을 분석하였다. 설정은 불꽃 이온화 검출기(FID)가 있는 가스 크로마토그래피에 연결된 정적 헤드스페이스 샘플러로 구성되었다. 그 목적을 위해 다음의 장비가 사용되었다:

[0175] HS-오토샘플러: HS40XI, TurboMatrix 110, Perkin Elmer.

[0176] HS-소프트웨어: HSControl v.2.00, Perkin Elmer.

[0177] GC: Autosystem XL, Perkin Elmer.

[0178] GC-소프트웨어: Turbochrom navigator, Perkin Elmer.

[0179] 컬럼: HP-FFAP 25 m x 0.20 mm x 0.33  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies.

[0180] 알려진 농도의 표준물질을 사용하여 반응 계수 (보정)을 결정하였고, 사용된 반응 계수가 하나의 분석 시리즈 내에서 뿐만 아니라 시리즈들 간에서 및 시간(개월)에 따라 안정하도록 조절하기 위하여 대조군(controls)이 사용되었다. 샘플 및 대조군 내 휘발성물질의 농도(ppm)를 표준물질에서 나온 반응 계수를 사용하여 결정하였다. 1 g의 요거트 샘플에 200  $\mu\text{l}$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가함으로써 샘플을 준비하고, 즉시 HSGC로 분석하였다.

[0181] 그 결과를 도 12에 나타내었는데, 이 도면은 다음 각각의 균주가 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데히드 농도를 감소시키는 능력을 갖는다는 것을 보여준다: Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, Lb.

퍼멘텀 CHCC12797, Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, Lb. 퍼멘텀 CHCC15848, Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 Lb. 퍼멘텀 CHCC2008.

#### [0182] 실시예 6:

##### [0183] 아세트알데히드 함량에 대한 Lb. 퍼멘텀 균주의 효과

1가지 Lb. 퍼멘텀 균주를 아세트알데히드의 낮은 함량에 대한 능력에 대하여 시험하였다.

[0185] 저지방(1.5% w/v) 균질 우유를  $90 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 20분 동안 열처리하고 즉시 냉각시켰다. 시판되는 스타터 배양물(F-DVS Mild 2.0)을 0.02% (v/w)로 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 1개의 병에 Lb. 퍼멘텀 균주를  $1 \times 10^7 \text{ CFU/g}$ 의 농도로 접종하였고, 1개의 병을 기준물로 사용하여 스타터 배양물만을 접종하였다. 모든 병을  $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가  $4.60 \pm 0.1$ 에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 후, 병을 격렬히 흔들어서 응고물을 파괴하고 얼음에서 냉각시켰다. 병들을  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 14일 동안 저장하였다.

[0186] 제14일에 복잡한 매트릭스에서 휘발성물질을 분석하기 위한 민감한 방법인 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피를 통해 아세트알데히드에 대하여 샘플을 분석하였다. 설정은 불꽃 이온화 검출기(FID)가 있는 가스 크로마토그래피에 연결된 정적 헤드스페이스 샘플러로 구성되었다. 그 목적을 위해 다음의 장비가 사용되었다:

[0187] HS-오토샘플러: HS40XI, TurboMatrix 110, Perkin Elmer.

[0188] HS-소프트웨어: HSControl v.2.00, Perkin Elmer.

[0189] GC: Autosystem XL, Perkin Elmer.

[0190] GC-소프트웨어: Turbochrom navigator, Perkin Elmer.

[0191] 컬럼: HP-FFAP 25 m x 0.20 mm x 0.33  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies.

[0192] 알려진 농도의 표준물질을 사용하여 반응 계수(보정)을 결정하였고, 사용된 반응 계수가 하나의 분석 시리즈 내에서 뿐만 아니라 시리즈들 간에서 및 시간(개월)에 따라 안정하도록 조절하기 위하여 대조군(controls)이 사용되었다. 샘플 및 대조군 내 휘발성물질의 농도(ppm)를 표준물질에서 나온 반응 계수를 사용하여 결정하였다. 1 g의 요거트 샘플에 200  $\mu\text{l}$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가함으로써 샘플을 준비하고, 즉시 HSGC로 분석하였다.

[0193] 그 결과를 도 13에 나타내었는데, 이 도면은 Lb. 퍼멘텀 CHCC14591가 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데히드 농도를 감소시키는 능력을 갖는다는 것을 보여준다.

#### [0194] 실시예 7:

##### [0195] 시판되는 스타터 배양물의 기능 분석

[0196] 4가지 시판되는 스타터 배양물은 서로 상이한 산성화 프로파일에 기초하여 선택되었다. 3가지는 냉동된 F-DVS CH-1, F-DVS YoFlex Mild 2.0 및 F-DVS YF-L901이었고, 하나는 동결건조된 FD-DVS YF-L812이었다. 산성화 프로파일의 차이를 시험하기 위하여, 반(semi) 지방 우유를 탈지분유로 1% 지방 및 4.5% 단백질로 표준화시킨 다음,  $85 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 30분 동안 열처리하고, 즉시 냉각시켰다. 4가지 서로 상이한 시판되는 배양물(F-DVS CH-1, F-DVS YoFlex Mild 2.0, F-DVS YF-L901 또는 FD-DVS YF-L812) 중 하나를 0.02% (v/w)로 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 모든 병을  $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가 4.5에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 동안 pH를 지속적으로 측정하였다. 그런 다음, 병들을  $6^\circ\text{C}$ 에서 43일 동안 저장하고, 후산성화 수준을 결정하기 위하여 pH를 7일 간격으로 측정하였다.

[0197] 4가지 시판되는 스타터 배양물 F-DVS CH-1, F-DVS YoFlex Mild 2.0, F-DVS YF-L901 및 FD-DVS YF-L812의 산성화 프로파일을 도 14에 나타내었다. F-DVS CH-1은 4.87 시간 동안 pH 4.55에 도달하는 신속한 발효시간을 보였다. F-DVS YoFlex Mild 2.0은 5.29 시간 동안 pH 4.55에 도달하는 중간 발효 시간을 보였다. FD-DVS YF-L812 및 F-DVS YF-L901은 각각 6.45 시간 및 5.87 시간 동안 pH 4.55에 도달하는 보다 느린 발효를 보였다. 후산성화 프로파일은 FD-DVS YF-L812 및 F-DVS YoFlex Mild 2.0에 있어서 낮은 수준의 후산성화를 보였고 ( $6^\circ\text{C}$ 에서 43일 동안 저장한 후  $\Delta \text{pH}=0.12$  및  $\Delta \text{pH}=0.11$ ), F-DVS YF-L901에 있어서 중간 수준의 후산성화를 보였으며 ( $6^\circ\text{C}$ 에서 43일 동안 저장한 후  $\Delta \text{pH}=0.26$ ), F-DVS CH-1에 있어서 높은 수준의 후산성화를 보였다 ( $6^\circ\text{C}$ 에서 43일 동안 저장한 후  $\Delta \text{pH}=0.55$ )(도 15).

#### [0198] 실시예 8:

- [0199] 2가지 서로 상이한 스타터 배양물로 발효시킬 경우, 서로 상이한 곰팡이 오염물에 대한 9가지 Lb. 퍼멘텀 균주의 억제 효과의 반정량분석
- [0200] 9가지 Lb. 퍼멘텀 균주의 억제 효과의 반정량분석을 위하여, 요거트 제조 공정 및 제품과 유사한 한천-분석을 사용하였다:
- [0201] 저지방(1.5% w/v) 균질 우유를  $90 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 20분 동안 열처리하고 즉시 냉각시켰다. 2가지 시판되는 스타터 배양물(F-DVS CH-1 또는 FD-DVS YF-L812)을 0.02% (v/w)로 우유에 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 각 스타터 배양물이 접종된 9개의 병에 Lb. 퍼멘텀 균주를  $1 \times 10^7 \text{ CFU/g}$ 의 농도로 접종하였고, 각 스타터 배양물이 접종된 1개의 병을 기준물로 사용하여 스타터 배양물만을 접종하였다. 모든 병을  $43 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가  $4.55 \pm 0.1$ 에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 후, 병을 격렬히 흔들어서 응고물을 과과하고 얼음에서 냉각시켰다. 발효유를  $40^{\circ}\text{C}$  온도로 가온하고, 여기에, 미리 녹여서  $60^{\circ}\text{C}$ 로 냉각시킨 5% 무균 한천 용액 40 ml를 첨가하였다. 상기 발효유와 한천의 용액을 무균 페트리 접시에 붓고, 이 플레이트를 LAF 벤치에서 30분 동안 건조시켰다.
- [0202] 시험된 Lb. 퍼멘텀 균주는 다음과 같다: Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, Lb. 퍼멘텀 CHCC15848, Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 Lb. 퍼멘텀 CHCC2008.
- [0203] 2가지 서로 상이한 곰팡이의 포자 혼탁액을 500 포자/점의 농도로 스팽팅하였다; 페니실리움 브레비콤팩텀 (DSM32094), P. 솔리텀(DSM32093). 1가지 곰팡이를 각 플레이트에 스팽팅하였다. 플레이트를  $7 \pm 1^{\circ}\text{C}$  및  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 인큐베이션시키고, 곰팡이의 증식을 정기적으로 검사하였다.
- [0204] 제14일에 복잡한 매트릭스에서 휘발성물질을 분석하기 위한 민감한 방법인 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피를 통해 디아세틸에 대하여 샘플을 분석하였다. 설정은 불꽃 이온화 검출기(FID)가 있는 가스 크로마토그래피에 연결된 정적 헤드스페이스 샘플러로 구성되었다. 그 목적을 위해 다음의 장비가 사용되었다:
- [0205] HS-오토샘플러: HS40XI, TurboMatrix 110, Perkin Elmer.
- [0206] HS-소프트웨어: HSControl v.2.00, Perkin Elmer.
- [0207] GC: Autosystem XL, Perkin Elmer.
- [0208] GC-소프트웨어: Turbochrom navigator, Perkin Elmer.
- [0209] 컬럼: HP-FFAP 25 m x 0.20 mm x 0.33  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies.
- [0210] 알려진 농도의 표준물질을 사용하여 반응 계수 (보정)을 결정하였고, 사용된 반응 계수가 하나의 분석 시리즈 내에서 뿐만 아니라 시리즈들 간에서 및 시간(개월)에 따라 안정하도록 조절하기 위하여 대조군(controls)이 사용되었다. 샘플 및 대조군 내 휘발성물질의 농도(ppm)를 표준물질에서 나온 반응 계수를 사용하여 결정하였다. 1 g의 요거트 샘플에 200  $\mu\text{l}$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가함으로써 샘플을 준비하고, 즉시 HSGC로 분석하였다.
- [0211] 스타터 배양물로만 발효된 우유(기준물)로 만든 한천 플레이트에서 모든 시험된 곰팡이가 아주 잘 증식했음을 보여주는, 한천-분석의 결과를 도 16-19에 나타내었다. P. 브레비콤팩텀(DSM32094) 및 P. 솔리텀(DSM32093)에 있어서, 모든 Lb. 퍼멘텀 균주가 우유 발효 중에 존재할 경우, 사용된 스타터 배양물에 관계없이 증식이 크게 저연되었음이 관찰되었다.
- [0212] 디아세틸 생성에 대한 효과를 도 20에 나타내었는데, 이 도면은 다음 각각의 항진균성 균주가 스타터 배양물에 의해 생성되는 수준에 디아세틸을 더하지 않음을 보여준다: Lb. 퍼멘텀 CHCC12798, Lb. 퍼멘텀 CHCC12797, Lb. 퍼멘텀 CHCC14591, Lb. 퍼멘텀 CHCC14588, Lb. 퍼멘텀 CHCC15844, Lb. 퍼멘텀 CHCC15865, Lb. 퍼멘텀 CHCC15847, Lb. 퍼멘텀 CHCC15926, 및 Lb. 퍼멘텀 CHCC2008.
- [0213] 이러한 발견은, 선행기술의 항진균성 식품-등급 박테리아가, 스타터 배양물에 의해 야기되는 휘발성 화합물의 분비에 기여하는 것으로 관찰되었기 때문에, 예기치 못한 매우 유의한 것이다.
- [0214] 실시예 9:
- [0215] 2가지 서로 상이한 스타터 배양물로 발효시킬 경우, 아세트알데히드 함량에 대한 9가지 Lb. 퍼멘텀 균주의 효과
- [0216] 9가지 Lb. 퍼멘텀 균주를 아세트알데히드 함량을 낮추는 능력에 대하여 시험하였다.

[0217] 저지방(1.5% w/v) 균질 우유를  $90\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 20분 동안 열처리하고 즉시 냉각시켰다. 2가지 시판되는 스타터 배양물(F-DVS CH-1 또는 FD-DVS YF-L812)을 0.02% (v/w)로 우유에 접종하고, 접종된 우유를 200 ml 병들에 분배하였다. 9개의 병에 Lb. 페멘텀 균주를  $1 \times 10^7$  CFU/g의 농도로 접종하였고, 각 스타터 배양물이 접종된 1개의 병을 기준물로 사용하여 스타터 배양물만을 접종하였다. 모든 병을  $43\pm1^{\circ}\text{C}$ 의 수조에서 인큐베이션시키고, pH가  $4.55\pm0.1$ 에 도달할 때까지 이 조건에서 발효시켰다. 발효 후, 병을 격렬히 흔들어서 응고물을 파괴하고 얼음에서 냉각시켰다. 병들을  $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 에서 14일 동안 저장하였다.

[0218] 시험된 Lb. 페멘텀 균주는 다음과 같다: Lb. 페멘텀 CHCC12798, Lb. 페멘텀 CHCC12797, Lb. 페멘텀 CHCC14591, Lb. 페멘텀 CHCC14588, Lb. 페멘텀 CHCC15844, Lb. 페멘텀 CHCC15865, Lb. 페멘텀 CHCC15847, Lb. 페멘텀 CHCC15926, 및 Lb. 페멘텀 CHCC2008.

[0219] 제14일에 복잡한 매트릭스에서 휘발성물질을 분석하기 위한 민감한 방법인 정적 헤드스페이스 가스 크로마토그래피를 통해 아세트알데하이드에 대하여 샘플을 분석하였다. 설정은 불꽃 이온화 검출기(FID)가 있는 가스 크로마토그래피에 연결된 정적 헤드스페이스 샘플러로 구성되었다. 그 목적을 위해 다음의 장비가 사용되었다:

[0220] HS-오토샘플러: HS40XI, TurboMatrix 110, Perkin Elmer.

[0221] HS-소프트웨어: HSControl v.2.00, Perkin Elmer.

[0222] GC: Autosystem XL, Perkin Elmer.

[0223] GC-소프트웨어: Turbochrom navigator, Perkin Elmer.

[0224] 컬럼: HP-FFAP 25 m x 0.20 mm x 0.33  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies.

[0225] 알려진 농도의 표준물질을 사용하여 반응 계수(보정)을 결정하였고, 사용된 반응 계수가 하나의 분석 시리즈 내에서 뿐만 아니라 시리즈들 간에서 및 시간(개월)에 따라 안정하도록 조절하기 위하여 대조군(controls)이 사용되었다. 샘플 및 대조군 내 휘발성물질의 농도(ppm)를 표준물질에서 나온 반응 계수를 사용하여 결정하였다. 1 g의 요거트 샘플에 200  $\mu\text{l}$ 의 4N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 첨가함으로써 샘플을 준비하고, 즉시 HSGC로 분석하였다.

[0226] 그 결과를 도 21에 나타내었는데, 다음 각각의 균주가 발효유 제품에서 발효 중에 스타터 배양물에 의해 생성되는 아세트알데하이드 농도를 감소시키는 능력을 갖는다는 것을 보여준다: Lb. 페멘텀 CHCC12798, Lb. 페멘텀 CHCC12797, Lb. 페멘텀 CHCC14591, Lb. 페멘텀 CHCC14588, Lb. 페멘텀 CHCC15844, Lb. 페멘텀 CHCC15865, Lb. 페멘텀 CHCC15847, Lb. 페멘텀 CHCC15926, 및 Lb. 페멘텀 CHCC2008.

#### [0227] 참고문헌

[0228] EP0221499

[0229] EP0576780

[0230] EP1442113

[0231] US5,378,458

[0232] EP2 693 885

[0233] EP13717237

[0234] EP13714671

[0235] Gerez et al., Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria, Biological Control, vol. 64 (2013): 231-237

[0236] Aunsbjerg et al., Contribution of volatiles to the antifungal effect of *Lactobacillus paracasei* in defined medium and yoghurt, Int J Food Microbiology, vol. 194 (2015): 46-53

[0237] Kosikowski, F.V. and Mistry, V.V., "Cheese and Fermented Milk Foods", 1997, 3rd Ed. F.V. Kosikowski, L.L.C. Westport, CT

#### [0238] 기탁 및 전문가용 참조 사항

- [0239] 출원인은 특허가 부여되는 날까지 아래 명시된 기탁된 미생물의 샘플을 전문가에게만 제공할 것을 요청한다.
- [0240] 하기 균주들은 Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig (DSMZ)에 2015년 7월 16일에 기탁되었고(기탁일 예외: 수탁번호 32096, 수탁번호 22584, 하기 참조), 수탁번호는 다음과 같다.
- [0241] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC12798: 32084
- [0242] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC12797: 32085
- [0243] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC14591: 32086
- [0244] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC14588: 32087
- [0245] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15844: 32088
- [0246] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15865: 32089
- [0247] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15847: 32090
- [0248] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15848: 32091
- [0249] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC15926: 32096 (기탁일: 2015년 7월 22일)
- [0250] 락토바실러스 퍼멘텀 균주 CHCC2008: 22584 (기탁일: 2009년 5월 19일)
- [0251] 락토바실러스 람노수스 균주 CHCC15860: 32092
- [0252] 페니실리움 솔리텀 균주 CHCC16948: 32093
- [0253] 페니실리움 브레비콤팩텀 균주 CHCC16935: 32094
- [0254] 상기 기탁은 특허 절차를 목적으로 하는 미생물 기탁에 대한 국제적 인정에 관한 부다페스트 조약에 따라 이루어졌다.

### 수탁번호

[0255]

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32084

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32085

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32086

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32087

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32088

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32089

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32090

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32091

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32096

수탁일자 : 20150722

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM22584

수탁일자 : 20090519

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32092

수탁일자 : 20150716

기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32093

수탁일자 : 20150716

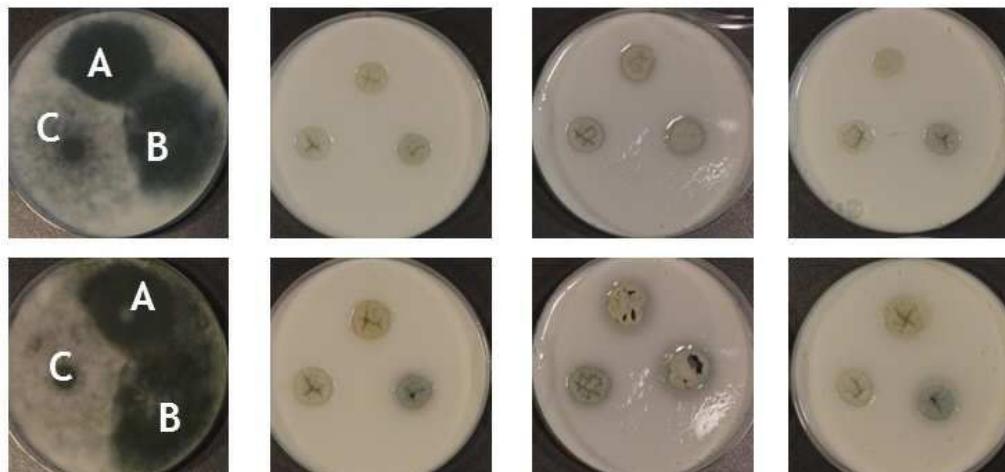
기탁기관명 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

수탁번호 : DSM32094

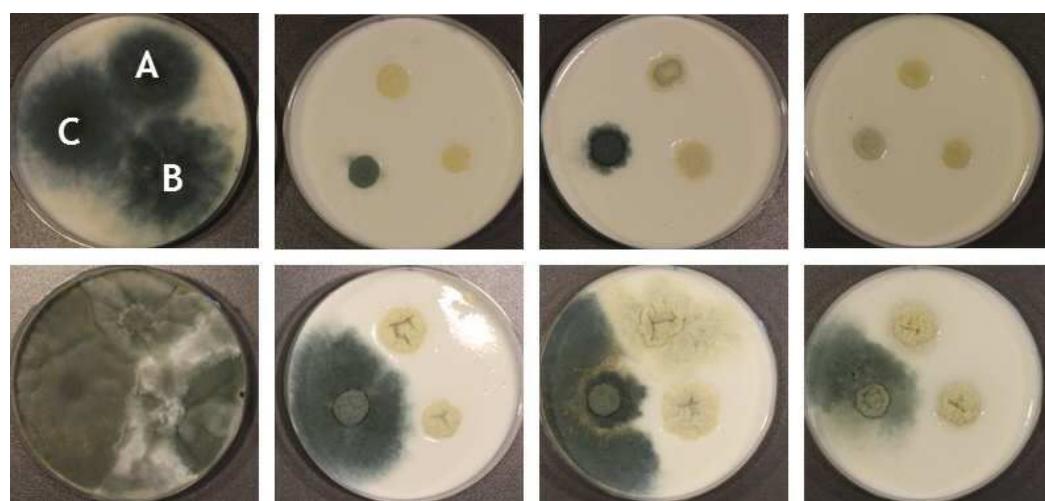
수탁일자 : 20150716

도면

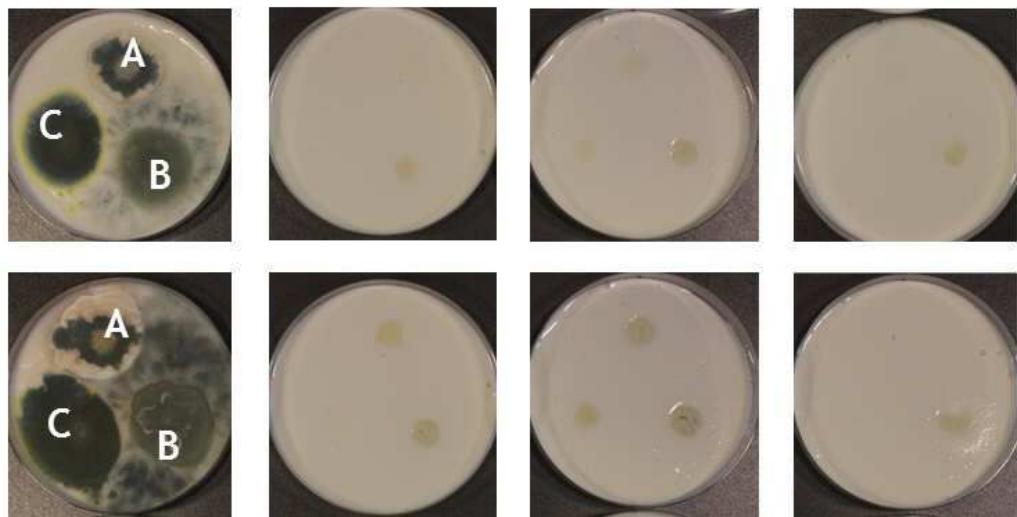
도면1



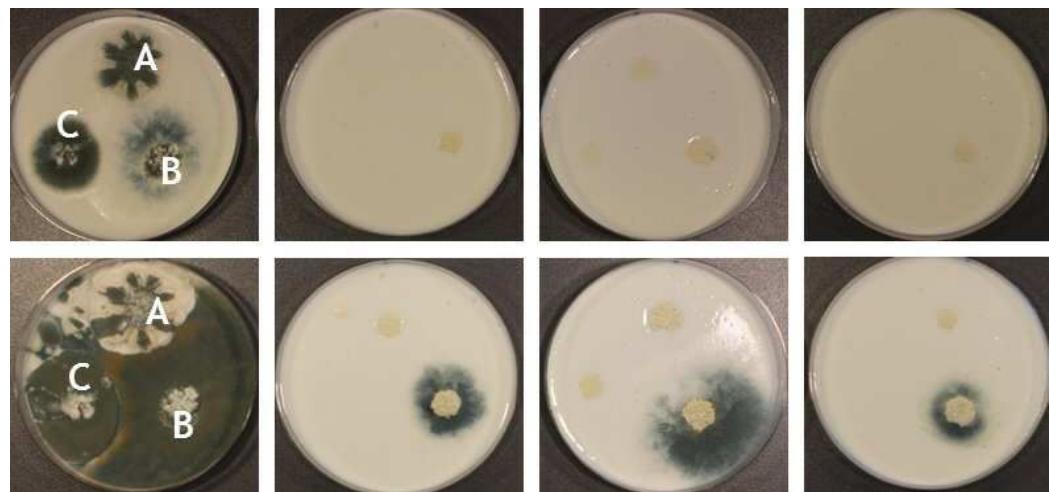
도면2



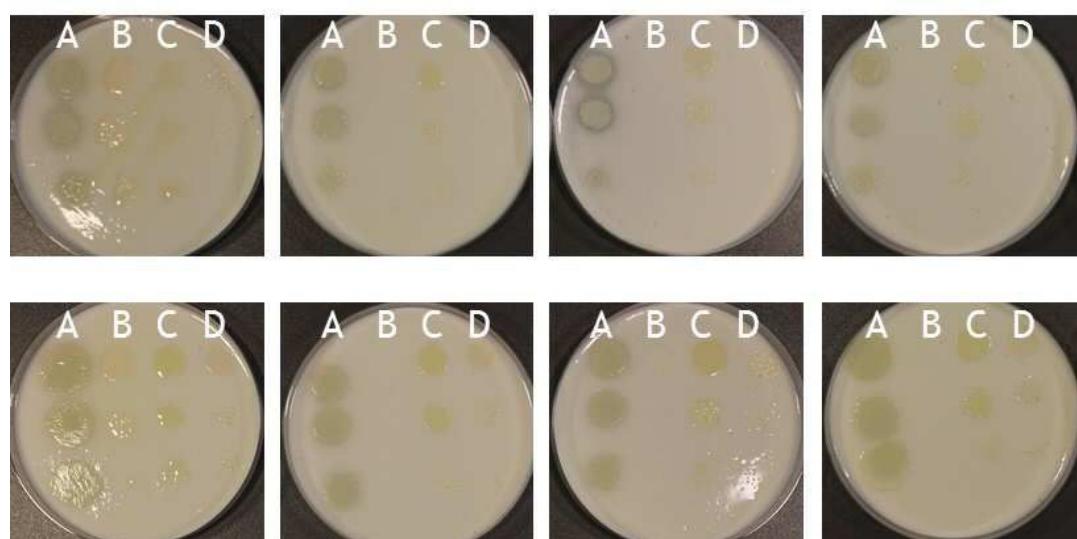
도면3



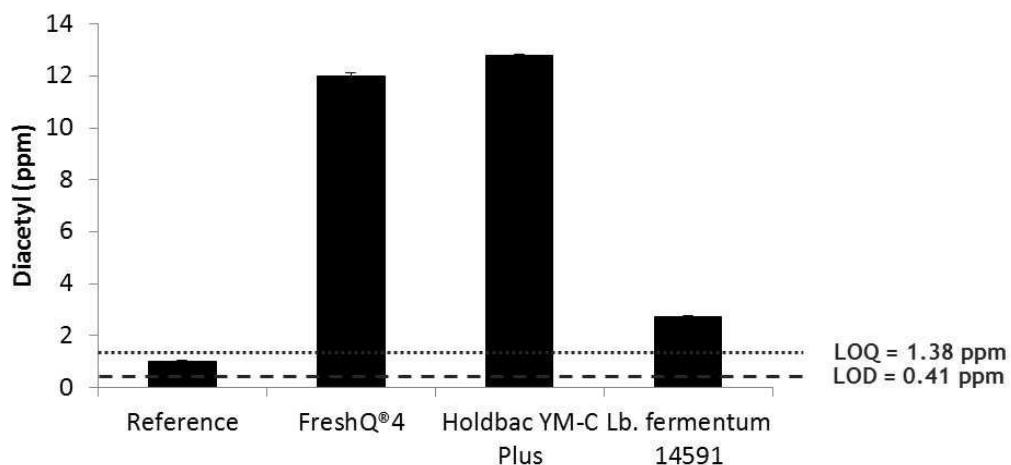
도면4



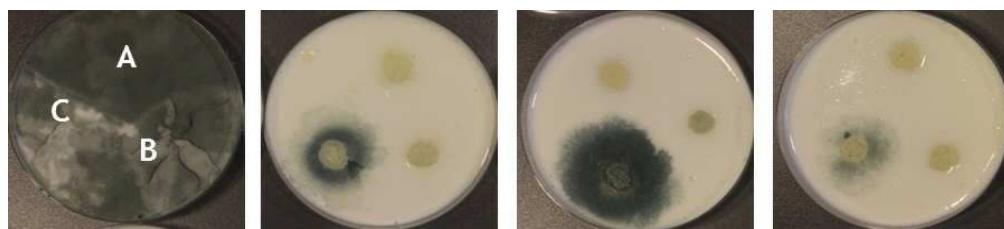
도면5



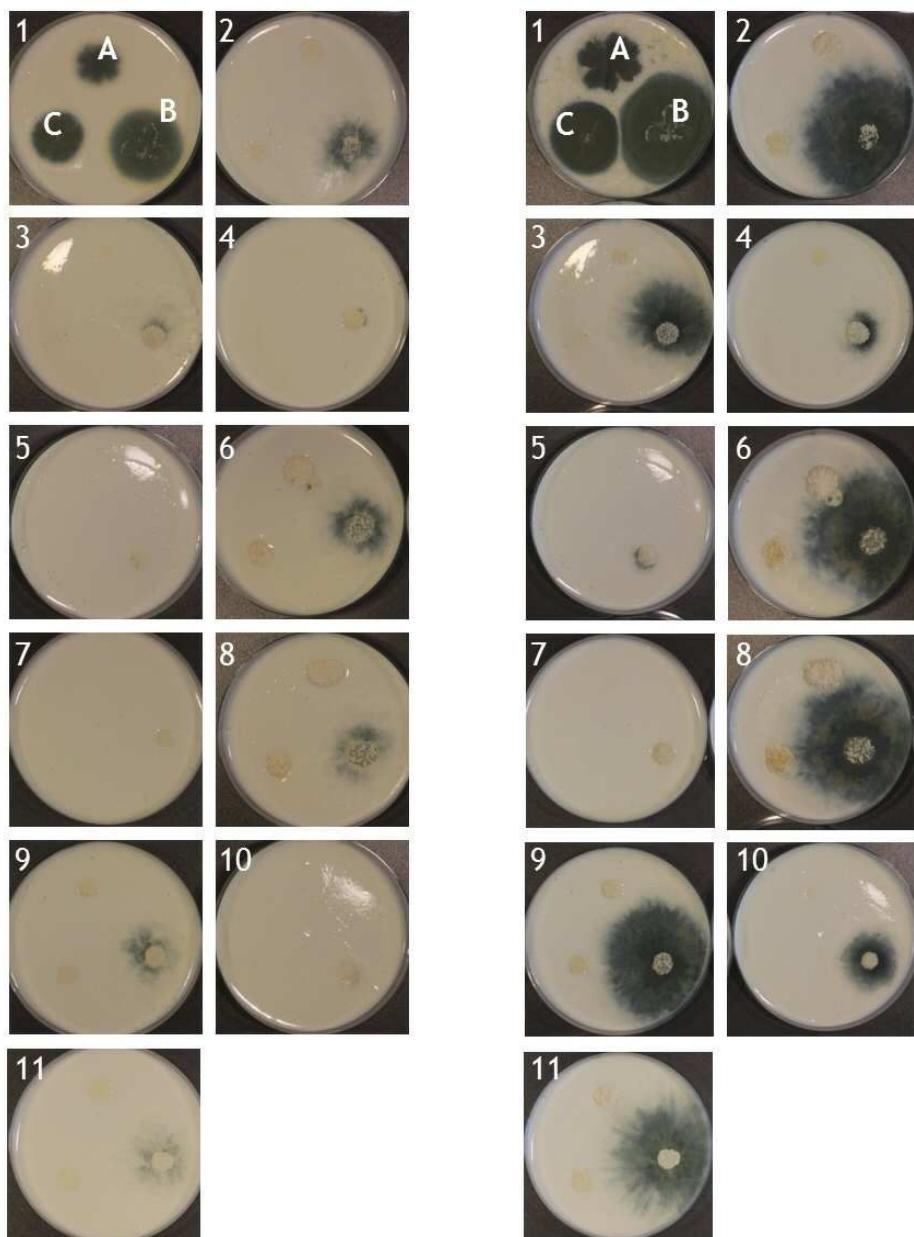
도면6



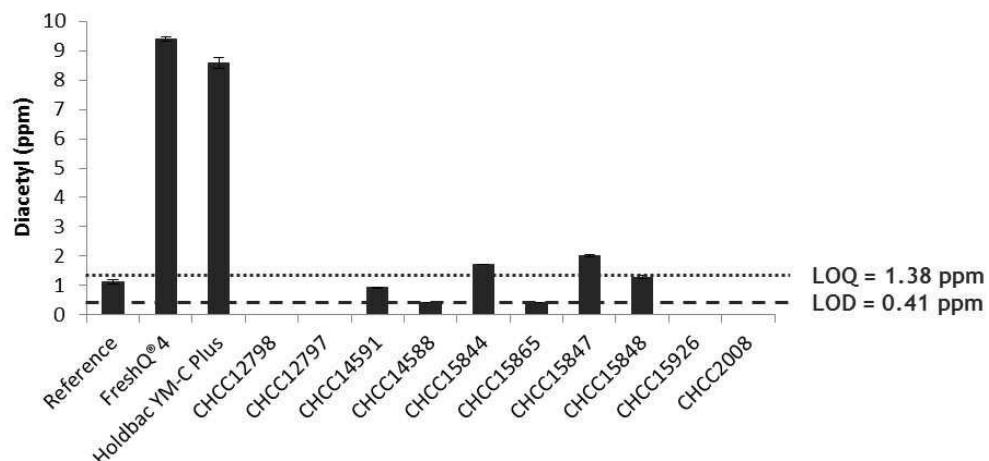
도면7



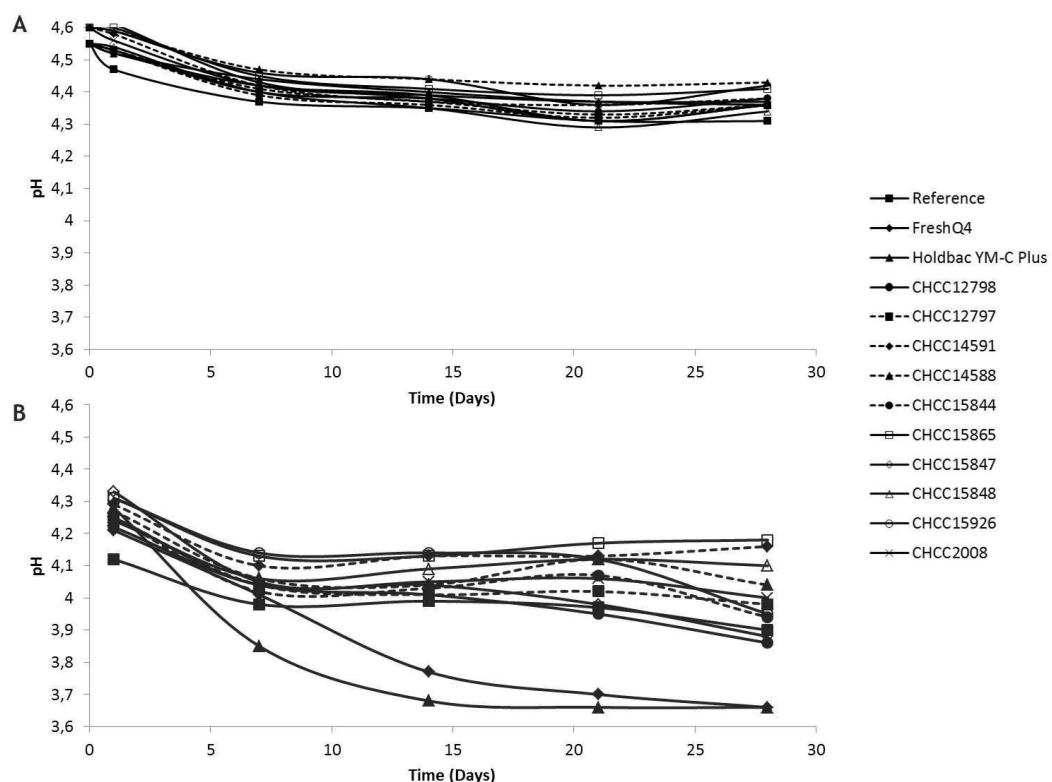
도면8



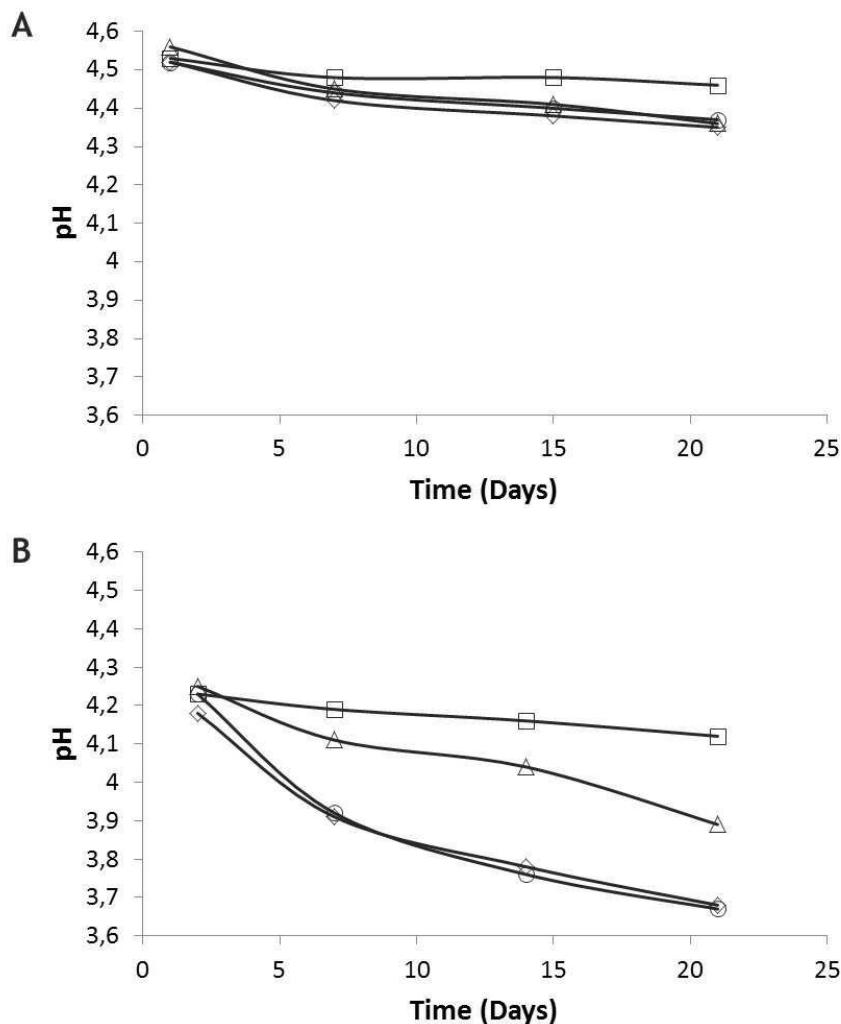
도면9



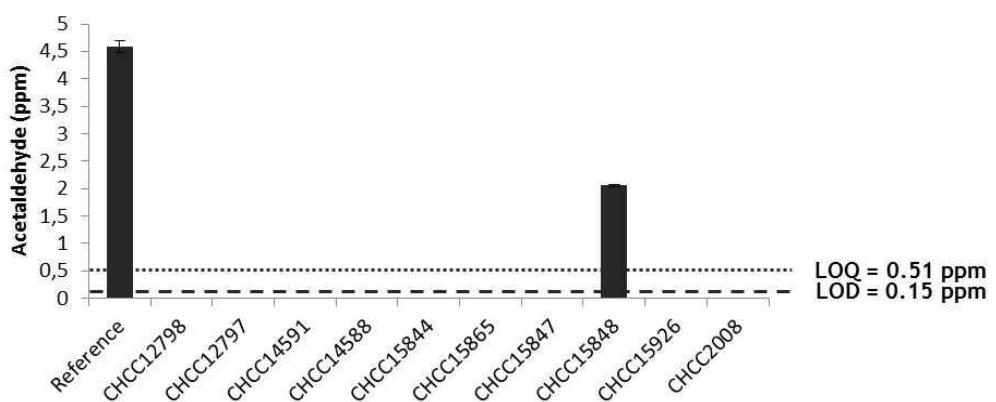
도면10



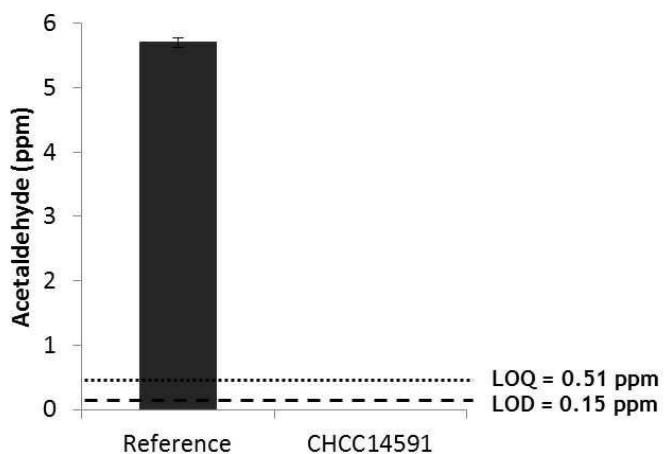
## 도면11



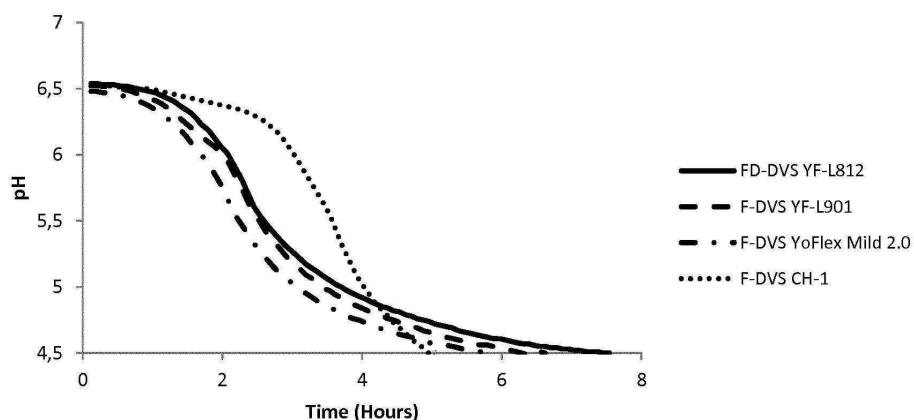
## 도면12



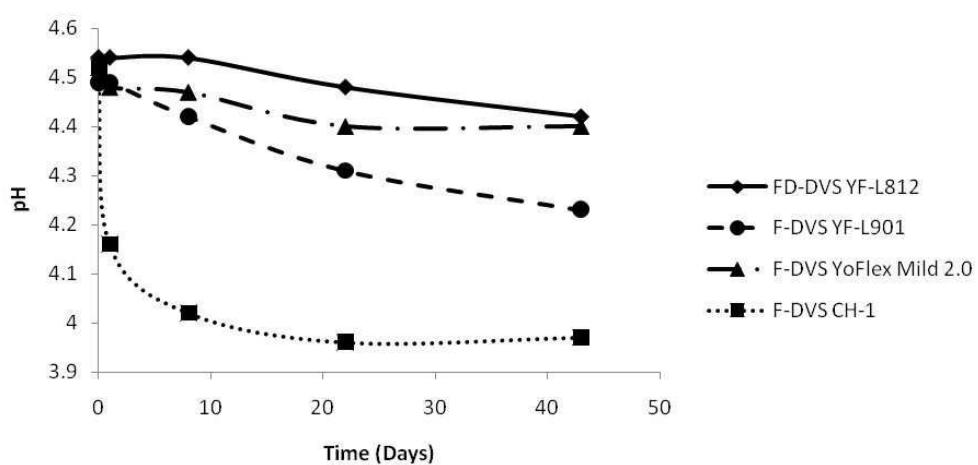
도면13



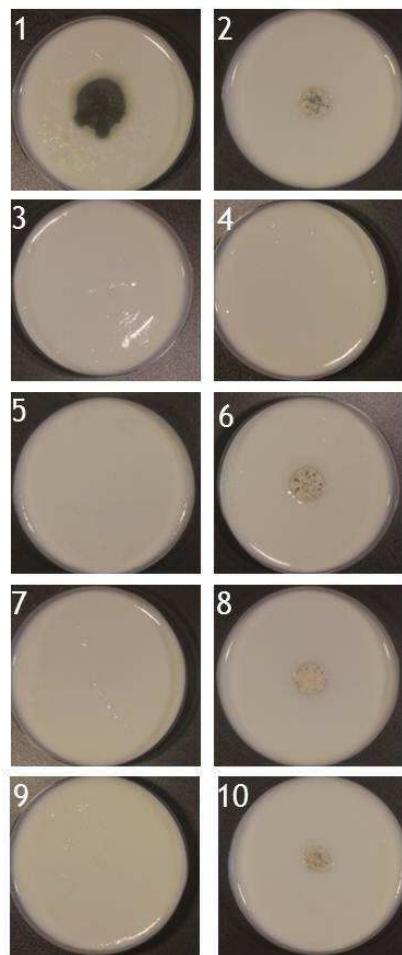
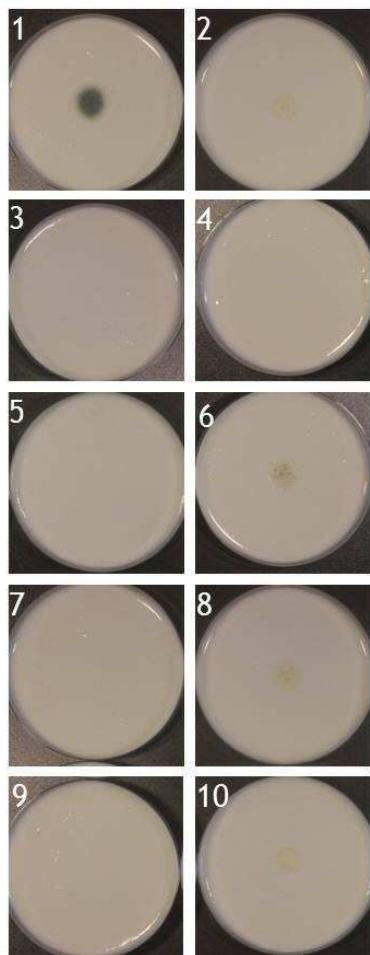
도면14



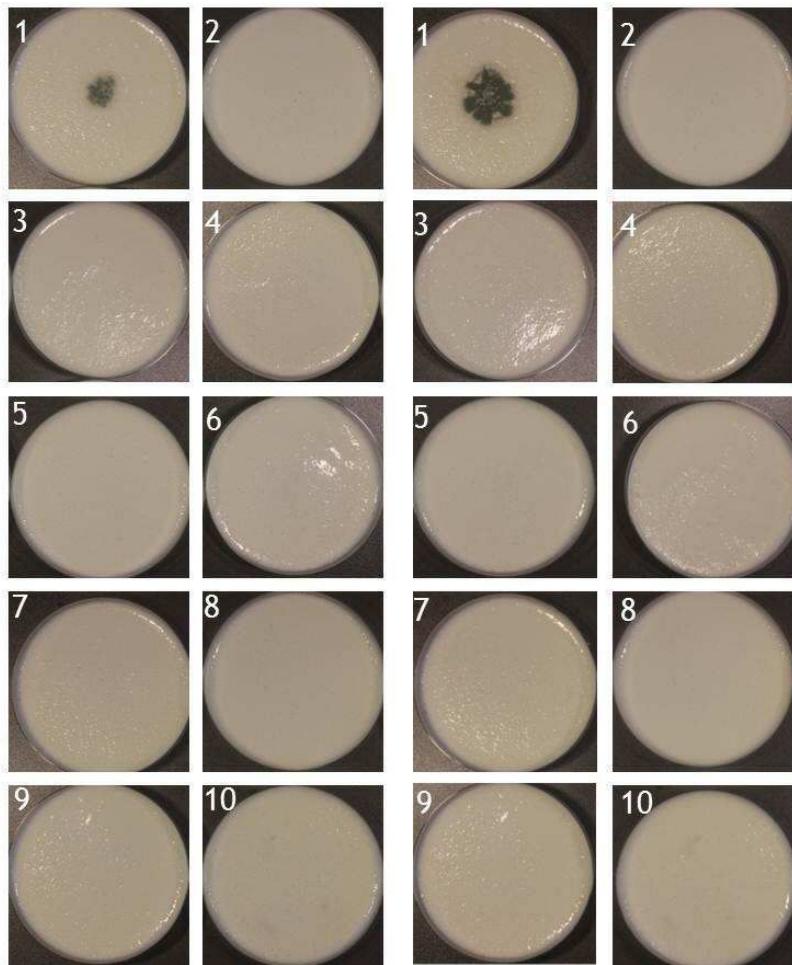
도면15



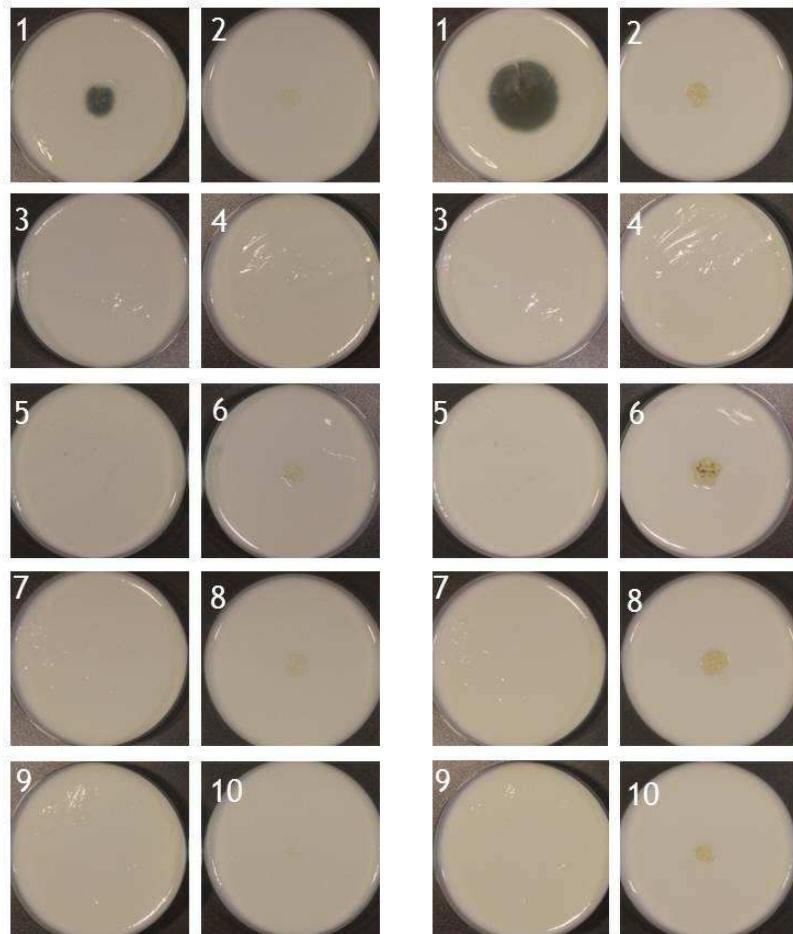
도면16



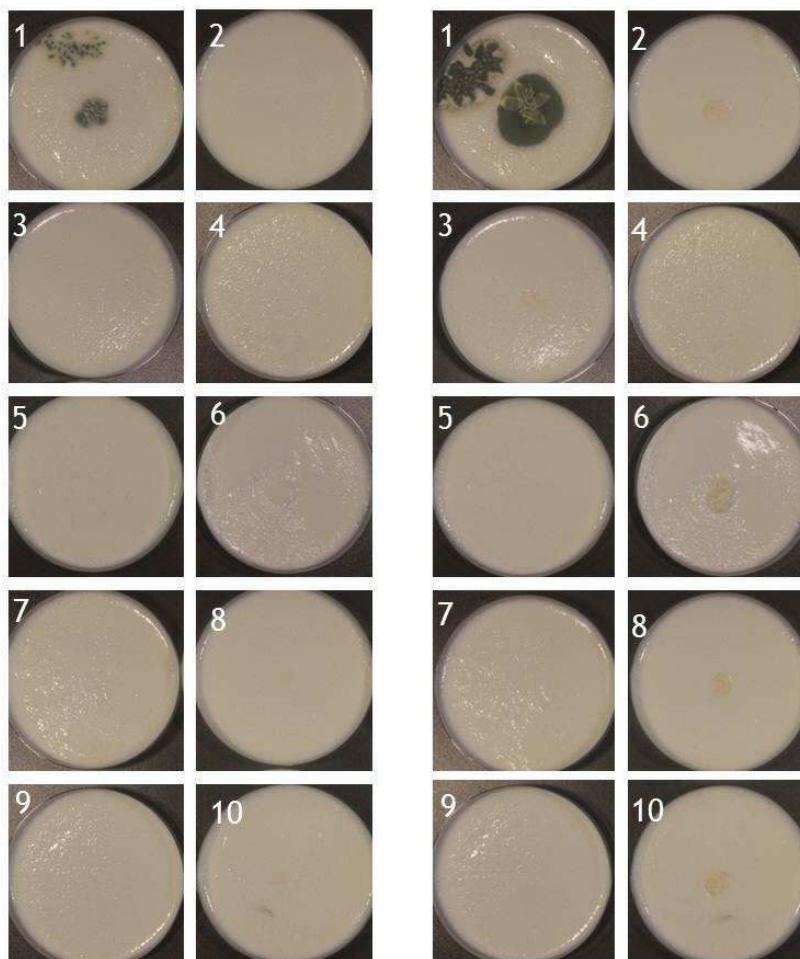
도면17



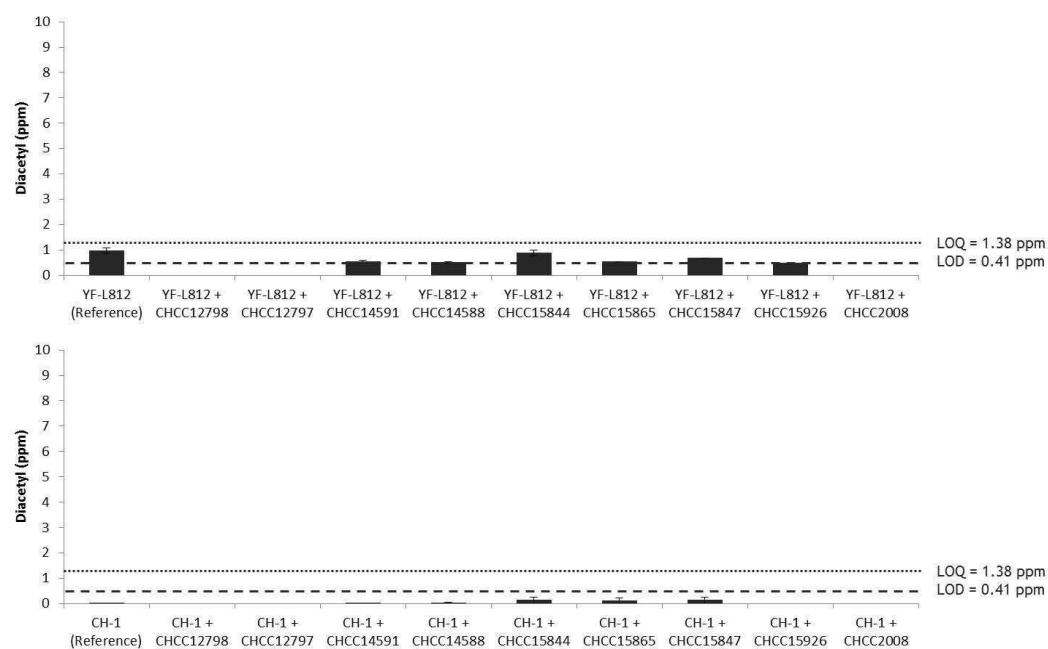
도면18



## 도면19



## 도면20



## 도면21

