



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년08월03일
(11) 등록번호 10-1764899
(24) 등록일자 2017년07월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) A23F 5/02 (2006.01)
A23F 5/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 1/20 (2013.01)
A23F 5/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0084017
(22) 출원일자 2015년06월15일
심사청구일자 2015년06월15일
(65) 공개번호 10-2016-0147365
(43) 공개일자 2016년12월23일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020060100394 A
[http://kctc.kribb.re.kr/jsearch/j_sview.aspx?sn=3746\(2002.\)*](http://kctc.kribb.re.kr/jsearch/j_sview.aspx?sn=3746(2002.)*)
Journal of bacteriology, Vol.194,
pp.5711-5712(2012.10.)*
「2015 한국생물공학회 춘계학술발표대회 및 국제
심포지엄」초록집, pp.548(2014.04.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단
충청남도 천안시 동남구 단대로 119, 단국대학교천안캠퍼스내(안서동)
(72) 발명자
노재영
충청남도 천안시 동남구 성불사길 41, 102동 805호(안서동, 대림e편한세상아파트)
이영기
서울특별시 강남구 선릉로 206, 103동 1001호(대치동, 동부센트레빌)
(74) 대리인
특허법인아이엠

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 김지연

(54) 발명의 명칭 **Weissella속 균주 배양액을 포함하는 로부스타 생두 생물전환용 조성물 및 상기 조성물로 처리하여 얻어진 생물전환 로부스타 생두**

(57) 요약

본 발명은 커피 생두의 생물전환에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 로부스타종 생물전환용 Weissella속 균주, 상기 균주가 처리된 생물전환된 로부스타생두 및 상기 생물전환된 로부스타생두 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도2a



(52) CPC특허분류
A23F 5/163 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0198859

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 (사)한국산학연합회

연구사업명 산학연 자율편성형/첫걸음기술개발

연구과제명 커피 생두의 생물전환(bioconversion method)에 의한 커피원두생산기술

기 여 율 1/1

주관기관 한국기술교육대학교 산학협력단

연구기간 2014.06.01 ~ 2015.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

일반 영양배지를 사용한 *Weissella cibaria* KCTC 3746 및 *Weissella koreensis* KCTC 3621로 배양액 중 하나 이상을 유효성분으로 포함하여, 로부스타(Robusta)종 생두를 발효시켜 pH를 pH 4 내지 pH 5로 낮추도록 작용하는 것을 특징으로 하는 로부스타생두 생물전환용 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 생물전환된 로부스타종 생두에 포함되는 카페인 함량을 상기 로부스타종 생두에 포함된 카페인 함량보다 200mg/kg 이상 감소시키는 것을 특징으로 하는 로부스타생두 생물전환용 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1 항 또는 제 3 항의 로부스타생두 생물전환용 조성물에 의해 발효된 것으로서, pH가 pH 4 내지 pH 5인 것을 특징으로 하는 생물전환 로부스타 생두.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제 5 항에 있어서,

상기 생물전환 로부스타 생두의 카페인 함량은 생물전환 전 로부스타 생두의 카페인 함량보다 200mg/kg 이상 감소된 것을 특징으로 하는 생물전환 로부스타 생두.

발명의 설명

기술분야

본 발명은 커피 생두의 생물전환에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 로부스타종 생두에 특화되어 풍미를 향상시킬 수 있도록 생물전환이 가능한 *Weissella*속 균주배양액을 포함하는 로부스타 생두 생물전환용 조성물 및 상

[0001]

기 조성물을 처리하여 얻어진 생물전환 로부스타 생두에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 커피의 품종은 대표적으로 아라비카(Arabica), 로부스타(Robusta), 리베리카(Liberica) 3종류로 분류될 수 있다. 이중 아라비카 종이 커피 총 생산량의 70%, 로부스타 종이 30%를 차지하며, 리베리카 종은 1% 미만의 극소량이 생산되어 생산지에서만 소비되고 있다. 아라비카 종은 원산지가 이디오피아로 열대와 아열대 사이의 해발 1000m에서 생산되는데, 브라질, 콜롬비아, 멕시코, 과테말라, 이디오피아, 탄자니아, 케냐, 르완다, 인도 등지에서 생산되고 있으며, 로부스타 종에 비하여 단맛, 신맛, 감칠맛 그리고 향이 뛰어나 그 가격이 비싸다. 로부스타 종의 원산지는 콩고로 열대지방 저지대에 세 재배되어 성장이 빠르고 쓴 맛이 강하며 풍미가 좀 부족하다. 가격이 저렴하여 주로 인스턴트 커피나 액상 커피(리퀴드 커피), 아이스 커피 등에 사용되는데 인도, 에콰도르, 브라질 일부 지역에서 생산하고 있다. 리베리카 종은 원산지인 리베리카 가문의 커피로 뿌리가 깊어 저온이나 병충해에 강하고 저지대에서도 환경 적응력이 뛰어나지만 향과 맛이 좋지 않아 생산지에서만 소비되고 있다.

[0003] 커피생두에는 수백 가지 이상의 화학물질이 들어 있으며 그 중에서도 다당류, 지질, 유기아미노산, 단백질, 무기질, 카페인 등이 커피의 향과 맛에 매우 밀접한 관련이 있다. 이들 성분의 함량은 생두의 종류(아라비카, 로부스타 등)나 생산지역, 재배환경에 따라 조금씩 다르지만 일반적으로 다당류 37~55%, 지질 11~13%, 유기아미노산 11~16%, 단백질 4~5%, 무기질 3~5%, 지방산 2% 내외, 클로로겐산 트리코넨린, 카페인 등이 각각 1% 가량 포함되어 있는 것으로 알려져 있다. 생두의 성분 중에서 가장 큰 비중을 차지하는 다당류는 설탕이나 포도당과 마찬가지로 열을 가하면 카라멜화 되면서 커피색을 띄는 동시에 향기와 감칠맛을 내는 작용을 한다.

[0004] 커피원두는 하기 표 1과 같이 가공방법에 따라 맛과 향, 그리고 성분이 변화하게 되는데 일반적인 가공법으로는 자연건조법, 습식법, 펄프드 내추럴 등이 있다. 다른 가공법으로는 커피열매를 자연 상태로 발효시키거나, 생두를 특정 미생물에 의해 발효시켜 만든 원두가 생산되고 있다. 그 외 사향고양이의 배설물에서 얻은 생두로 만든 루왁(Luwak) 커피가 있다. 루왁커피는 쓴맛이 적고, 향미가 좋아, 자연에서 채취한 배설물 또는 사향고양이의 인공적 사육을 통하여 얻어진 배설물을 가공한 부드러운 향미를 가지는 커피를 생산하며, 현재 세계에서 가장 비싼 커피로 판매되고 있다. 루왁은 사향고양이의 소화기관에서 소화 발효되는 과정을 거치기 때문에, 이러한 과정을 인위적으로 수행하여 향미가 개선된 커피를 제조하는 방법을 개발하려는 노력이 진행되고 있다.

표 1

[0005]

커피품종	아라비카 종		로부스타 종	
	마일드(브라질 외 타입)		브라질	로부스타
가공방법	물 세척법		자연건조	자연건조
주요커피	특급커피 콜롬비아 과테말라 하와이/케냐 탄자니아	일급커피 멕시코 온두라스 코스타리카 도미니카 에콰도르 페루 인도	에티오피아 온두라스 에콰도르 페루 도미니카	아이보리코스트 우간다 카메룬 자이레 인도네시아 필리핀 베트남/태국

[0006] 특히 한국특허공개 제10-2006-0100394에는 커피추출물을 효모 또는 유산균으로 발효시키는 단계를 포함하여, 꽃향 및 과일향이 나는 커피의 제조방법이 제시되어 있고, 미국특허공개 제2009/0220645호에는 사향고양이의 소화기관을 모방하여, 내과피 생두를 낮은 pH에서 효소처리하는 단계를 포함하는 커피의 가공방법이 제시되어 있으며, 미국특허공개 제2010/0239711호에는 진균류(Eumycota)의 곰팡이를 생두에 처리하는 방법이 제시되어 있다.

[0007] 이와 함께 최근에 소비자의 needs는 현재의 커피 맛과 향과의 다소 차별화된 상품과 건강에 유익한 성분이 있는 기능성 커피의 요구가 증가되고 있는 추세이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명자들은 커피생두를 대상으로 다양한 균주를 사용하여 생물전환을 수행한 결과 특정균주가 로부스타종 생두의 풍미를 높이고 카페인 함량을 낮추는 것을 발견하여 본 발명을 완성하였다.
- [0009] 따라서, 본 발명의 목적은 로부스타 생두에 처리되면 보다 기호성이 높은 맛과 향을 갖도록 전환된 생두를 얻을 수 있어 로부스타종에 특화되어 우수한 커피생두로 전환시킬 수 있는 로부스타종 생물전환용 균주로서의 *Weissella*속 균주의 새로운 용도를 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 다른 목적은 가격이 저렴한 로부스타 생두를 생물전환시켜 기호성이 높은 맛과 향을 갖는 고급원두를 얻을 수 있어 로부스타종의 부가가치를 현저하게 향상시킬 수 있는 로부스타 생두 생물전환용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 목적은 로부스타종 생두 생물전환용 조성물로 처리되어 보다 기호성이 높은 맛과 향을 갖도록 생물전환된 생물전환 로부스타 커피생두를 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 목적은 이상에서 언급한 목적으로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 목적들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 상술된 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 로부스타(Robusta)종 생두를 발효시켜 쓴맛을 낮추고 풍미를 높이도록 작용하는 로부스타 생물전환용 *Weissella* 속 균주 배양액을 유효성분으로 포함하는 로부스타 생두 생물전환용 조성물을 제공한다.
- [0014] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 *Weissella* 속 균주는 *Weissella beninensi*, *Weissella cibaria*, *Weissella confuse*, *Weissella fabaria*, *Weissella ghanensis*, *Weissella halotolerans*, *Weissella hanii*, *Weissella hellanica*, *Weissella kandleri*, *Weissella koreensis*, *Weissella minor*, *Weissella paramesenteroides*, *Weissella salipiscis*, *Weissella soli*, *Weissella thailandensis*, *Weissella viridescens* 로 구성된 그룹에서 선택되는 어느 하나이다.
- [0015] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 *Weissella* 속 균주는 상기 로부스타종 생두에 포함된 카페인 함량을 낮춘다.
- [0016] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 로부스타종 생두의 발효를 통해 신맛과 단맛을 강화시켜 풍미를 높인다.
- [0017] 또한, 본 발명은 상술된 어느 하나의 로부스타 생물전환용 *Weissella* 속 균주에 의해 발효되어 쓴맛이 적고 풍미가 높아진 것을 특징으로 하는 생물전환 로부스타 생두를 제공한다.
- [0018] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 쓴맛은 생물전환 전 로부스타 생두의 쓴맛보다 40%이상 감소된 것이다.
- [0019] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 풍미는 생물전환 전 로부스타 생두의 풍미보다 70%이상 증가된 것이다.
- [0020] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 생물전환 로부스타 생두의 pH는 pH 4 내지 pH 5이다.
- [0021] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 생물전환 로부스타 생두의 카페인 함량은 생물전환 전 로부스타 생두의 카페인 함량보다 200mg/kg 이상 감소된다.

발명의 효과

- [0022] 먼저, 본 발명의 *Weissella*속 균주는 로부스타 생두에 처리되면 보다 기호성이 높은 맛과 향을 갖도록 전환된 생두를 얻을 수 있어 로부스타종에 특화되어 우수한 커피생두로 전환시킬 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명의 로부스타종 생물전환용 균주는 가격이 저렴한 로부스타 생두를 생물전환시켜 기호성이 높은 맛과 향을 갖는 고급원두를 얻을 수 있어 로부스타종의 부가가치를 현저하게 향상시킬 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명의 생물전환 로부스타 커피생두는 로부스타종 생물전환용 균주로 처리되어 보다 기호성이 높은 맛과 향을 갖는다.

도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 본 발명의 *Weissella*속 균주의 종들 및 분리원을 도시한 표이다.
- 도 2a 및 도 2b는 본 발명의 실시예들에서 생물전환되기 전 후의 로부스타 생두의 사진이다.
- 도 3a 내지 도 3c는 본 발명의 실시예들에서 얻어진 생물전환 로부스타 생두의 카페인함량을 액체크로마토그래프 (HPLC)로 분석한 결과그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 본 발명에서 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.
- [0027] 이하, 첨부한 도면 및 바람직한 실시예들을 참조하여 본 발명의 기술적 구성을 상세하게 설명한다.
- [0028] 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화 될 수도 있다. 명세서 전체에 걸쳐 본 발명을 설명하기 위해 사용되는 동일한 참조번호는 동일한 구성요소를 나타낸다.
- [0029] 본 발명은 그 기술적 특징이 커피생두를 대상으로 다양한 균주를 사용하여 생물전환을 수행한 결과 *Weissella*속 균주가 로부스타종 생두의 풍미를 높이고 카페인 함량을 낮추는 특별하고 새로운 용도를 가지며, 로부스타종 생두가 *Weissella*속 균주에 의해 생물전환되면 맛과 풍미가 매우 우수한 고급생두를 얻을 수 있다는데 있으므로 이점을 고려하여 본 발명을 설명한다.
- [0030] 즉, *Weissella*속 균주는 유산균과(family)에 포함되는 그람 양성균으로 포자를 형성하지 않는 단간균(short rod)으로 길이는 1.5-2.0 μm 폭은 0.8-1.0 μm 정도이고, 발효를 통하여 에너지를 얻으며 포도당과 같은 당을 기질로 생육하면 헤테로락틱 발효(heterolactic fermentation)를 수행해서 유산과 함께 이산화탄소를 생성하며 균주에 따라 초산이나 알코올을 생성하는 것으로 알려져 있기 때문이다.
- [0031] *Weissella*속 균주는 1993년 Collins 등이 *Leuconostoc*속의 다른 종들과 차이를 보이는 *Leuconostoc paramesenteroides*와 *Lactobacillus*속 5종으로 새로운 속을 제안한 것이다. *Weissella*속 균주들은 김치와 같은 발효 소채류, 발효식품, 사람과 동물의 소화관, 소시지 등 다양한 자연환경에서 검출된다. *W. soli*는 토양에서 검출되었으며, 특별한 병원성은 보고되지 않았다. 김치에서는 *W. koreensis*와 *W. cibaria*가 분리 되었다. 이들 *Weissella*속 균주들은 김치를 포함한 각국의 다양한 발효식품들에서 검출됨을 알 수 있다
- [0032] 특히, 김치에서 분리된 *Weissella*속 균주들은 헤테로 락틱 발효를 수행하며 유산을 생성하기 때문에 김치의 산도를 낮추어 주는 역할을 한다. *Weissella*속 균들이 생산하는 효소와 그 기능성을 보면 *Weissella*속 균주들을 sucrose 함유 배지에서 배양할 경우 흔히 dextran같은 고분자 물질을 생성한다.
- [0033] Kim 등(2008)은 김치에서 분리한 *W. hellenica* 균주가 sucrose 함유 MRS 배지에서 분자량 203,000의 매우 큰 glucan을 생성하며 최적 생성조건은 pH 5와 20°C임을 확인하였다. 또 중합체 구조분석을 통해서 glucose 단위들이 β -1,3 결합으로 연결된 것으로 추정하였다. *Weissella*속 균주들 중에는 α -galactosidase(α -Gal)나 β -glucosidase(β -Glu)같은 산업적 응용성을 지닌 효소들을 생산하는 균주들이 있다. α -Gal는 대두에 많이 존재하는 소당류인 stachyose나 raffinose의 α -1,6결합을 끊어준다. 이들 당은 두유를 섭취할 경우 흔히 일어나는 소화불량이나 복통의 원인이 되기에 이들을 끊어주는 α -Gal 역가를 지닌 균을 두유발효에서 종균으로 사용하여 생물전환을 일으킬 수 있다. 한편 β -Glu는 대두에 존재하는 이소플라본 배당체들(isoflavone glycosides)을 생리활성이 더 높은 비배당체들(aglycones)로 생물전환 시켜서 발효대두제품들의 기능성을 증진시킨다. 비배당체들은 소화관에서 흡수율이 배당체들 보다 높아서 기능성 측면에서 배당체들 보다 우수하다고 알려져 있다. β -Glu 역가를 지닌 *Weissella*들의 생물전환 능으로 대두 이소플라본뿐 아니라 다른 식품소재들의 기능성 개선에도 활용될 수 있다. 이처럼 *Weissella*들이 지닌 β -Glu 역가를 활용한다면 식품중 배당체들의 전환을 통해서 기능성이 개선된 화합물을 얻을 수 있다.
- [0034] Yu 등(2009)은 김치에서 오르니틴 생성능을 지닌 *W. koreensis* 균주들을 분리하였다. L-오르니틴은 근육 증강,

비만 예방 및 면역증강 등의 효능이 알려져 있어 기능성 식품소재로 활용 가능성이 있는 물질이다. 1% arginine 이 첨가된 MRS 배지에서 배양한 결과 각각 27.01와 31.41 mg/L/h 수율로 오르니틴을 생성하였다. 이와 같이 *Weissella*가 아미노산인 아르기닌에서 오르니틴을 생성한 것은 생물전환의 또 다른 예이다.

[0035] 본 발명에서는 지금까지 알려진 바 없는 로부스타종 생두의 카페인 저감과 맛과 향을 변환시키는 생물전환용 *Weissella* 속 균주의 새로운 용도를 개발하고, 이를 이용하여 고부가가치의 생물전환 로부스타 생두를 얻었다.

[0036] 따라서, 본 발명의 로부스타 생물전환용 *Weissella* 속 균주는 로부스타(Robusta)종 생두를 발효시켜 쓴맛을 낮추고 풍미를 높이도록 작용한다.

[0037] 로부스타 생물전환용 *Weissella* 속 균주는 도 1에 도시된 바와 같이 *Weissella beninensi*, *Weissella cibaria*, *Weissella confuse*, *Weissella fabaria*, *Weissella ghanensis*, *Weissella halotolerans*, *Weissella hanii*, *Weissella hellanica*, *Weissella kandleri*, *Weissella koreensis*, *Weissella minor*, *Weissella paramesenteroides*, *Weissella salipiscis*, *Weissella soli*, *Weissella thailandensis*, *Weissella viridescens* 로 구성된 그룹에서 선택되는 어느 하나일 수 있는데, 이하의 실시예에서는 특히 김치에서 분리된 *Weissella* 속 균주인 *Weissella cibaria* 와 *Weissella koreensis* 가 사용되었다.

[0038] 본 발명의 로부스타 생물전환용 *Weissella* 속 균주에 의해 생물전환된 생물전환 로부스타 생두는 일반 로부스타 (Robusta) 생두에 비하여, 커피의 쓴맛을 나타내는 주된 성분인 카페인 함량이 유의하게 감소되며, 특히 신맛을 내는 산도(pH)가 커다란 폭으로 낮아져서 일반 로부스타(Robusta) 커피에 비해 쓴맛이 저감되고 단맛, 신맛, 향의 강도가 증강되어 후술하는 실험예에서 알 수 있듯이 높은 만족도를 나타냄을 알 수 있다.

[0039] 특히, 본 발명의 생물전환 로부스타 생두는 쓴맛이 생물전환 전 로부스타 생두의 쓴맛보다 40%이상 감소되었고, 풍미는 생물전환 전 로부스타 생두의 풍미보다 70%이상 증가되었으며, pH는 pH 4 내지 pH 5, pH 4.3 내지 4.7 범위에 있었으며, 카페인은 함량은 생물전환 전 로부스타 생두의 카페인 함량보다 200mg/kg 이상 감소되었으며, 본 발명에 의하면 저렴한 비용으로 고품격의 고급커피를 얻을 수 있음을 알 수 있다.

[0040] 또한, 본 발명에서 얻어진 생물전환 로부스타 생두는 수분함량은 15%미만이며, 일예로 10%-12%정도일 수 있다. 보관 기간을 고려하여 경우에 따라서는 10% 미만이 되도록 가공할 수도 있다.

[0041] 실시예 1

[0042] 1. 균주의 접종 및 배양단계

[0043] 2L flask에 MRS broth 1L를 제조한 후, 로부스타 생물전환용 *Weissella* 속 균주(입수된 *Weissella cibaria* KCTC 3746를 사용)를 배지에 접종하였다. 30℃에서 12- 24시간 동안 균수가 1.0×10^6 /ml ~ 1.0×10^9 /ml 가 될 때까지 배양하였다.

[0044] 2. 로부스타종 생두의 생물전환단계

[0045] 플라스크에 500g의 로부스타종 생두(베트남산)를 배양된 배지에 잠기도록 첨가한 후, 30℃에서 72시간 배양하였다.

[0046] 3. 생물전환 로부스타 생두 획득단계

[0047] 72시간 경과 후 flask의 생물전환 로부스타종 생두를 여과하여 물기를 제거한 후, 건조기의 온도를 70℃로 설정하고 24시간 동안 건조하여 생물전환 로부스타 생두1을 얻었다. 얻어진 생물전환 로부스타 생두1은 밀봉된 비닐 팩에 로스팅하기 전까지 보관하였다.

[0048] 실시예 2

[0049] *Weissella cibaria* KCTC 3746 대신 *Weissella koreensis* KCTC 3621를 사용한 것을 제외하면 실시예 1과 동일한 방법으로 생물전환 로부스타 생두2를 얻었다.

- [0050] 실시예 3
- [0051] 실시예1에서 얻어진 생물전환 로부스타생두1를 하기의 조건으로 로스팅하였다.
- [0052] 로스팅기계: lucky(Japan) 투입량: 1kg, 생두투입:195℃, 여열:2:30 G:0 댄퍼 3.3,중점:136℃ G:0.5 댄퍼: 3, 엘로우크랙: 150℃ G:0.9 댄퍼 2 시간:07:10, 1차크랙 :175℃ G:0.6 댄퍼 2.5 시간 :11:50, 2차크랙 :195℃ G:0.6 댄퍼 3 시간:14:15, 배출 :200℃, 상태 : 2차 크랙이 끝나지 않은 오일이 비치지 않은 중갈색 원두
- [0053] 그 후 0.3mm의 일정한 크기로 커피원두 분쇄한 후, 10g의 분쇄된 원두를 각각 에스프레소 머신에서 20초간 추출하였다. 30ml로 추출한 것을 증류수를 보충하여 최종 200ml 커피 추출액을 만들어서 생물전환 로부스타커피1을 얻었다.
- [0054] 실시예 4
- [0055] 실시예2에서 얻어진 생물전환 로부스타생두2를 사용한 것을 제외하면 실시예3과 동일한 방법을 수행하여 생물전환 로부스타커피2를 얻었다.
- [0056] 비교예
- [0057] 생물전환되지 않은 일반 로부스타 생두를 사용한 것을 제외하면 실시예3과 동일한 방법을 수행하여 비교예 로부스타커피를 얻었다.
- [0058] 실험예 1
- [0059] 실시예1 및 실시예2에서 얻어진 생물전환 로부스타 생두1 및 생물전환 로부스타 생두2의 생물전환전후의 외관을 관찰하여 그 결과 사진을 도 2a 및 도 2b에 도시하였다.
- [0060] 도 2a 및 도 2b로부터 *Weissella cibaria* KCTC 3746 및 *Weissella koreensis* KCTC 3621로 로부스타종 생두를 생물전환시켜 얻어진 생물전환 로부스타 생두는 로스팅되기 전에도 갈색을 띠는 것을 알 수 있다.
- [0061]
- [0062] 실험예 2
- [0063] 실시예 1 및 실시예 2와 동일하게 로부스타종 생두의 생물전환단계를 수행하면서, 시간에 따른 배양액의 pH변화를 측정하고 그 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2

[0064]	배양 시간	0	12	24	48	72	96	120	144
	실시예1의 pH	6.0	4.75	3.74	3.54	3.14	3.08	3.28	3.47
	실시예2의 pH	6.0	5.09	3.39	3.25	3.18	3.04	3.23	3.31

[0065] 표 2에서 알 수 있듯이, 로부스타종 생두의 생물전환단계에서 배양시간이 길어질수록 pH가 낮아져서 신맛이 강해지는 것을 알 수 있다. 산도는 커피 맛에 큰 영향을 주기 때문에 중요한 인자가 될 수 있다.

- [0066] 실험예 3
- [0067] 실시예3, 실시예4 및 비교예에서 얻어진 생물전환 로부스타커피1, 생물전환 로부스타커피2, 및 비교예 로부스타커피를 식힌 후 pH meter(Thermo orion 420A)로 측정하여 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

종류	pH
생물전환 전 일반 로부스타생두 커피추출액	5.6
생물전환 로부스타생두1 커피추출액	4.7
생물전환 로부스타생두2 커피추출액	4.3

[0068]

[0069]

[0070]

[0071]

[0072]

[0073]

표 3으로부터, 로부스타 생두가 본 발명의 로부스타 생물전환용 *Weissella* 속 균주에 의해 생물전환되면, pH가 유의하게 낮아지는 것을 알 수 있다.

실험예 4

생물전환되기 전 로부스타 생두의 카페인 함량과 실시예 1 및 2에서 얻어진 생물전환 로부스타 생두1 및 2의 카페인함량을 다음과 같이 액체크로마토그래프 (HPLC)로 분석하기 위해 시료는 실시예3, 실시예4 및 비교예에서 얻어진 커피추출액을 표준 카페인과 같이 PTFE membrane filter(sigma Co)로 필터링한 후 사용하였다. 그 결과는 각각 도 3a 내지 도 3c에 도시하면서 표 4에 나타내었다.

표준 카페인 제조 ; 카페인(sigma co.)을 메탄올에 녹여 희석한 후 PTFE membrane filter(sigma Co)로 거른 후 표준 카페인을 제조하였다.

액체크로마토그래프 (HPLC) 분석조건, Column: SP colimm C18, MG(5 μ m,4.6x250mm), Detector: PDA(280nm), Mobile phase MeOH:Acetic acid: H₂O(20:1:79), Column temp: 35 $^{\circ}$ C, Injection volume : 10 μ l, Flow rate: 1.0ml/min, Run time : 25min

표 4

종류	카페인(mg/kg)
생물전환 전 일반 로부스타생두	2407.50
생물전환 로부스타생두1	1684.45
생물전환 로부스타생두2	2160.83

[0074]

[0075]

[0076]

[0077]

[0078]

표 4 및 도 3a내지 도 3c의 결과로부터, 로부스타 생두가 본 발명의 로부스타 생물전환용 *Weissella* 속 균주에 의해 생물전환되면, 카페인 함량이 적어도 kg당 적게는 247mg 많게는 713mg이 감소되는 것을 알 수 있다.

실험예 5

실시예 3 및 4에서 얻어진 생물전환 로부스타 커피1 및 2와 비교예에서 얻어진 비교예 로부스타커피의 관능시험을 다음과 같이 수행하고 그 결과를 표 6 내지 표 8에 각각 나타내었다.

추출한 커피는 선발 훈련된 20명의 패널을 대상으로 각각 표5의 평가표로 관능평가를 실시하였다. 관능평가에 총 5회하여 평균값을 비교하였으며, 기호성 5점 측정법(1:매우 약함, 2:약함, 3:보통임, 4:강함, 5:매우 강함)을 사용하였다.

표 5

측정항목 # 점수	1	2	3	4	5
신맛(acidity)커피 고유의 고산지의 선호하는 신맛, 날카롭고 상쾌하지만 자극적이지 않음.					
단맛(sweet) 입안으로 퍼지는 자연스러운 단맛.					
쓴맛(bitter)탄향, 매운맛을 띤 쓴맛, 자극적, 너무 강하면 불쾌.					

[0079]

커피의 향(fragrance)으로 완숙된 체리로부터 맡을 수 있는 단맛을 동반한 풍미.					
바디감(body)으로 혀 전체에서 느껴지는 풍부한 질감.					
종합기호도(쓴맛 단맛 등의 맛의 적절한 균형감의 맛)					

표 6

비교예 로부스타 커피

횟수	신맛	단맛	쓴맛	향	바디감	종합 기호도	총 평
1	2.2± 0.1	2.0± 0.1	4.8± 0.1	4.2± 0.2	4.4± 0.2	3.2± 0.3	신맛, 단맛 거의 없음, 쓴맛이 매우 강함, 종합기호도 약함.
2	2.4± 0.2	3.1± 0.1	4.2± 0.2	4.2± 0.3	3.5± 0.2	3.0± 0.1	신맛, 단맛 거의 없음 쓴맛이 매우 강함 종합기호도 약함. 누룽지쓴맛
3	2.5± 0.3	2.4± 0.2	4.8± 0.1	4.2± 0.3	4.4± 0.3	3.5± 0.1	신맛, 단맛 거의 없음 쓴맛이 매우 강함 종합기호도 약함.
4	2.1± 0.1	2.2± 0.2	4.9± 0.1	4.2± 0.2	4.2± 0.2	3.3± 0.2	신맛, 단맛 거의 없음 쓴맛이 매우 강함 종합기호도 약함.
5	2.0± 0.2	2.4± 0.1	4.4± 0.3	4.2± 0.2	4.2± 0.2	3.8± 0.1	신맛, 단맛 거의 없음 쓴맛이 매우 강함 종합기호도 약함.

표 7

생물전환 로부스타 커피1

횟수	신맛	단맛	쓴맛	향	바디감	종합 기호도	총 평
1	4.5± ±0.2	4.1± 0.1	2.4± 0.2	4.3± ±0.1	3.8± ±0.2	4.8±0.3	신맛이 우선 나오고 강함, 뒤에 단맛이 따라 나옴, 후향도 있고 밸런스 강함.
2	4.7± ±0.1	4.3± 0.1	2.1± 0.2	4.7± ±0.3	3.9± ±0.2	4.4±0.2	카라멜향->신맛->단맛->입안 가득한 달콤한 향 초코릿 향도 함께 남. 밸런스 매우 적절함
3	4.5± 0.3	4.2± 0.2	2.1± 0.2	4.2± ±0.3	4.1± ±0.2	4.5±0.2	전체적으로 매우 고급스런 부드러움. 적절한 신맛, 단맛 초코릿향, 고소한 맛 후향이 강함, 밸런스 좋음
4	4.3± 0.3	4.1± ±0.2	3.2± ±0.1	4.5± ±0.3	3.7± ±0.3	4.8±0.2	로부스타의 특성인 쓴맛의 날카로움 없음, 단맛과 신맛, 과일향이 포함됨. 후향이 매우 좋음
5	4.6± 0.1	3.8± ±0.3	3.0± ±0.1	4.8± ±0.3	4.9± ±0.1	4.6±0.1	부드러운 쓴맛과 강한 후향이 함께 느껴짐, 입안 가득 향이 남음. 초코릿향과 강한 산미가 있음

표 8

생물전환 로부스타 커피2

횟수	신맛	단맛	쓴맛	향	바디감	종합 기호도	총 평
1	4.6± 0.3	4.5± ±0.2	2.8±0.1	4.5±0.2	4.2± ±0.1	4.6± ±0.2	강한 신맛이 나오고 뒤에 단맛이 따라 나옴, 후향도 있고 밸런스 강함.

2	4.8± 0.2	4.4 ±0.1	2.4±0.2	4.3±0.2	4.3 ±0.3	4.6 ±0.3	달콤한 향과 초코릿 향 함께 입안에 오래 머무름. 밸런스 매우 적절함
3	4.4± 0.2	4.7 ±0.1	2.6±0.2	4.1±0.1	3.8 ±0.1	4.8 ±0.3	부드럽고 밸런스가 맞고 신맛, 단맛 초고릿향, 과일향의 후향이 강함.
4	4.5± 0.1	4.2 ±0.1	2.2±0.2	4.7±0.1	4.1 ±0.1	4.7 ±0.1	쓴맛의 날카로움 없음, 단맛과 신맛, 과일향이 포함됨 후향이 매우 좋음
5	4.7± 0.3	4.6 ±0.2	3.6±0.1	4.2±0.2	4.1 ±0.2	4.7 ±0.2	약한 쓴맛과 과일향의 후향이 함께 느껴짐, 향이 오래 지속됨 초코향과 신맛이 있음

[0083] 상기 표 6의 결과로부터 명백하듯이, 생물전환 하지 않은 비교예 로부스타 커피의 경우 로부스타 특유의 강한 쓴맛을 나타냈으며 관능 실험결과 낮은 기호도와 만족도를 나타냈으나, 표 7 및 표 8에서 보여주듯이, 생물전환 로부스타 커피1 및 2의 경우 쓴맛은 거의 없고, 신맛이 강하며, 단맛의 강도가 세며 초코릿 향도 나고, 고소한 맛과 신맛과 과일향이 입 안 가득 남아있었으며 특히 후향이 입안에서 오래 지속되고 종합 기호도에서 높은 만족도와 선호도를 나타냈다.

[0084]

[0085] 이상에서 본 발명의 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속한다.

도면

도면1

species	source
<i>W. beninensis</i>	From cassava fermentations
<i>W. cibaria</i>	from Malaysian foods
<i>W. confuse</i>	from sugar cane
<i>W. fabaria</i>	from cocoa fermentation
<i>W. ghanensis</i>	from fermented cocoa
<i>W. halotolerans</i>	from sausage
<i>W. hantii</i> *	from kimchi
<i>W. hellenica</i>	from fermented Greek sausage
<i>W. kandleri</i>	from desert spring (Namib Desert, Namibia)
<i>W. koreensis</i>	from kimchi
<i>W. minor</i>	from milking machine slime
<i>W. paramesenteroides</i>	from fermented Greek sausage
<i>W. salipiscis</i> *	from fermented fish in Thailand
<i>W. soli</i>	from soil
<i>W. thailandensis</i>	from fermented fish in Thailand
<i>W. viridescens</i>	from cured meat products

*The species is not officialy confirmed.

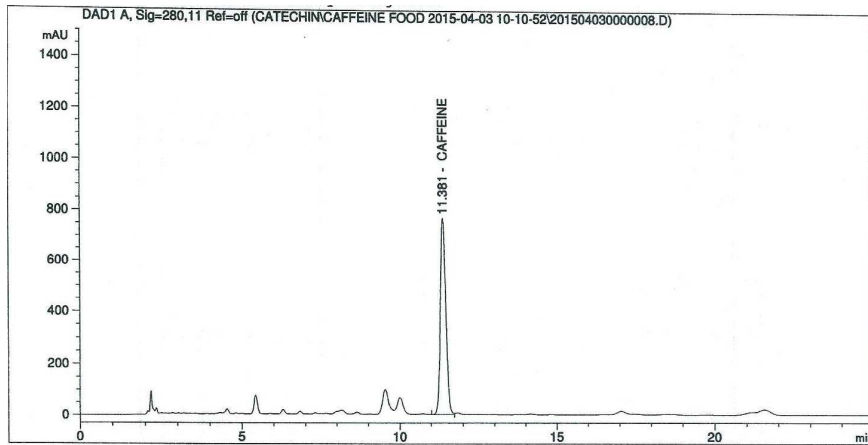
도면2a



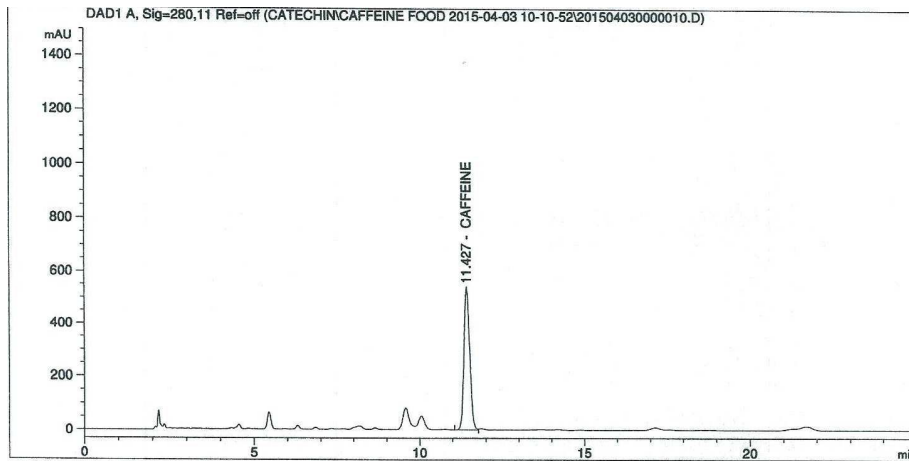
도면2b



도면3a



도면3b



도면3c

