

발간등록번호

11-1543000-001276-01

케피어 발효유(티벳버섯 발효유)의 대사성 지방간병
예방 기능성 규명 및 신규 제품 3종 개발을
통한 고부가가치화

(고부가가치식품기술개발사업)

(Validation of health benefit of kefir on
metabolic fatty liver disease and
development of 3 types of high profitable kefir products)

(주) 센서젠

농림축산식품자료실



0007691

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “케피어 발효유(티벳버섯 발효유)의 대사성 지방간병 예방 기능성 규명 및 신규 제품 3종 개발을 통한 고부가가치화” 과제의 보고서로 제출합니다.

2016 년 3 월 21 일

주관연구기관명 : (주) 센서젠

주관연구책임자 : 서 건 호

연 구 원 : 송 광 영

연 구 원 : 박 진 형

요 약 문

I. 제 목

커피어 발효유(티벳버섯 발효유)의 대사성 지방간병 예방 기능성 규명 및 신규 제품 3종 개발을 통한 고부가가치화

II. 연구성과 목표 대비 실적

구 분	지식재산권		논문		학술 발표	기술 실시	교육 지도	사업화	기술 인증	인력 양성	정책 활용	홍보 전시	균주 기탁	
	출원	등록	SCI	비 SCI										
최종목표	1	0	1	0	2	1	0	3	0	0	0	1	5	
당해 연도	목표	1	0	1	0	2	1	0	3	0	0	0	1	5
	실적	1	0	1	0	2	1	0	3	0	0	0	1	5
달성율(%)	100	-	100	-	100	100	-	100	-	-	-	100	100	

III. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 대사성 지방간병은 서구화된 식습관 및 활동 감소로 인하여 발생률이 급증하고 있으며, 이 질환을 방치할 경우 최종적으로 간암으로 발전하기 때문에 이에 대한 대처가 필요하나 아직까지 치료제가 존재하지 않는 실정임. 따라서, 지방간병에 효과가 높은 기능성식품 개발이 필요함. 하지만, 현재 상용화된 커피어 발효유 제품은 질환 개선 효능이 밝혀진 것이 없음. 본 기업은 선행연구를 통해 커피어 발효유가 대사성 지방간병에 대한 예방효과가 있음을 확인하였음. 본 연구에서는 유산균-효모-초산균 복합 공생체인 커피어 발효유 제품개발과 대사성 지방간병 질환개선 효과를 명확하게 규명하고자 함. 또한, 상용화된 제품의 종류는 액상 음료 제품에 국한되어 있어 다양한 제품개발을 통한 기호성 증대와 소비자의 선택의 폭을 넓힐 필요가 있음. 따라서, 소비자의 기호성, 유통 용이성 등을 고려하여 오리지널 커피어 발효유, 블루베리 커피어 발효유, 동결건조 커피어 그레인 등 최소 3종 형태의 다양한 제품을 개발하고자 함. 본 연구에서는 대사성 지방간병 예방효과가 뛰어난 커피어 3종 제품 개발을 통해서 특허를 획득하고 상업화에 필요한 연구를 수행하고자 함

IV. 연구개발 내용 및 범위

본 연구에서는 우선 커피어 그레인 활성화 최적화 및 발효유 제조 공정 개발을 실시하였음. 케

피어 그레인 활성 분석 이용한 대량생산 조건 확립하고, 커피어 그레인 내 핵심 균주 모니터링 기술을 활용하였으며, 발효 온도, 발효 시간, 우유-그레인 비율별 활성 분석 및 그레인 증량 분석을 통한 최적 발효조건을 확립하였음. 두 번째로, 기존제품 대비 대사성 지방간 예방 기능 우수성 입증 연구를 하였음. 우선 in vivo 실험을 통한 지방간 개선효과의 과학적 근거를 확보하였고, 섭취 전후 혈중지질 및 조직학적 평가를 실시하였음. 또한, 기존 제품의 효능과 비교하여 신규 제품 기능성의 우수성을 입증하였음. 세 번째로, 대량생산기술 및 동결건조 기술을 활용한 3종 시제품 개발을 실시하였다. 오리지널 커피어 발효유 개발시에는 풍미개선, 유통기한 산정, 포장, 품질관리 등을 중점적으로 연구하였으며, 블루베리 커피어 발효유에서는 기호성 향상에 중점을 두었음. 커피어 그레인 동결건조 제품 개발시에는 동결건조 조건 확립 및 포장기술 연구에 중점을 두었음. 마지막으로, 웹사이트 판매망 구축 및 제품 출시를 위해서 본사 홈페이지에 건강식품 컨텐츠 개선을 통한 판매망을 구축하고 공개 시음회를 통한 제품 홍보를 실시하였음. 또한 대량 생산 기술 관련 특허를 출원하고 및 균주 기탁을 실시하였으며 제품출시를 위한 시장분석을 실시함.

V. 연구개발결과

본 기업은 커피어 발효유가 유럽과 남미 지역에서 비만, 당뇨 등 만성 대사성 질환의 치료 보조식품으로 이용되고 있다는 점에 착안하여, 커피어 발효유가 대사성 지방간병에 대해서도 예방효과가 있는지 알아보았음. 본 연구개발을 통해 예방 기능성의 메커니즘을 규명하고, 오리지널 커피어 발효유, 블루베리 커피어 발효유, 동결건조 커피어 그레인 등 3종의 제품을 개발하였음. 개발된 제품을 3주 이상 꾸준히 섭취하는 경우 장내세균총의 개선(유익균총 증가 및 유해균총 감소) 및 대사성 지방간병 예방효과를 볼 수 있음을 확인하였음. 또한, 블루베리 커피어 발효유의 경우 오리지널 커피어 발효유에 항산화 기능이 뛰어나다고 알려진 블루베리를 첨가하여 풍미를 개선하였음. 마지막으로 집에서 직접 커피어 발효유를 제조해 먹고자 하는 소비자층을 위하여 동결건조 커피어 그레인 제품을 개발하였음. 본 제품은 보관이 용이하고 유통기간이 매우 길며 한번 구매하면 영구적으로 사용이 가능한 발효 스타터 제품임. 이와 같이, 본 연구를 통하여 커피어 발효유의 대사성 지방간병 예방 기능성 규명 및 신규 제품 3종 개발을 통한 고부가가치화를 성공적으로 달성하였음.

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

상기 세 가지 제품 개발을 통해서 국민 건강에 기여, 유가공 산업에서 문제가 되고 있는 재고 우유의 고부가가치화, 국내 발효유 시장 활성화 등을 기대함.

SUMMARY

Validation of health benefit of kefir on metabolic fatty liver disease and development of 3 types of high profitable kefir products

Recently, the prevalence of metabolic fatty liver disease is gradually increasing worldwide due to westernized diet (i.e. high-fat and low-fiber diet) and reduced physical activity. In spite of this disease can develop into liver cancer and in need of management, there is no medicine for it. Developing functional foods for the prevention and treatment of metabolic fatty liver disease are necessary. Sensorgen Inc. previously demonstrated the effects of kefir fermented milk to prevent fatty liver disease. In this study, we are going to develop kefir milk, which is complex symbiont of lactobacillus-yeast-acetobacter, and define clearly about metabolic fatty liver improvement effect. And also, as sort of commercialized product is limited in liquid beverage, It needs to increase palatability and variety of choice of consumers through various product investigation. Therefore, we developed three types of commercial kefir products, including original kefir milk, blueberry-flavored kefir milk, and lyophilized kefir grain starter to meet customer's needs and ease of distribution. In the present study, by developing kefir milk of health benefit on metabolic fatty liver disease, We applied for a patent and carried out a research for commercialization. Firstly, we accomplished the optimization of the activity of kefir grain and the development of kefir milk manufacturing process. Firstly, we accomplished vitality optimization of kefir grain and development of manufacturing process of fermented milk. we established the optimal fermentation condition through development of monitoring technique for core strain in kefir grain, vitality analysis of kefir-grain at different fermentation temperature and time, and analysis of increase in grain quantity. Secondly, we accomplished a confirm that validation of health benefit of kefir on metabolic fatty liver disease is outstanding compared to existing commercialized kefir products. In advance, we retained scientific basis of improvement effect on fatty liver disease by in vivo research beforehand, and accomplished a evaluation of blood lipids and histologic, before and after ingestion. For the third time, we developed the 3 types of new products by using large-scale

production and freezing-drying technology. We focused on establishing shelf-life of kefir milk and packing in development of liquid fermented milk, and improving organoleptic quality in development of blueberry-flavored kefir milk. We focused on estimation of lyophilization condition and research of packing technique in development of lyophilized kefir grain starter. Finally, we established health food contents on our website. In addition, we applied for the patent about quantity production technology, and accomplished deposit of strain and market analysis for the product launch. Because kefir fermented milk is use as health food for obesity and diabetes in Europe and South America, we investigated whether the kefir milk have the health effects on metabolic fatty liver disease. Validation of mechanism of health benefit by the present study and development of 3 types of kefir products including original kefir milk, blueberry-flavored kefir milk, and lyophilized kefir grain starter. We confirmed that taking in product for three weeks constantly will improve intestinal microflora (increasing beneficial microbiota and reducing harmful microbiota) and health benefit on metabolic fatty liver diseases. In addition, blueberry-flavored kefir milk is made by adding the blueberry into kefir milk. Finally, for those who want to make kefir milk at home, we developed lyophilized kefir grain starter. The product is easy to store and has a very long expiration date and can be used permanantly as a fermentation starter. Thus, through this study, we succeeded in validation of health benefit of kefir on metabolic fatty liver disease, and development of 3 types of high profitable kefir products. Through the development of the 3 types of kefir products, we expect the improvement of public health, production of high-valued dairy processing products coupled with consuming stock milk, and activation of domestic dairy industry.

CONTENTS

Chapter 1. Summary of the study-----	8
Chapter 2. Present conditions of world-wide technical developments -----	10
Chapter 3. Contents and results of the study -----	21
Chapter 4. Achievement of aims and contribution -----	88
Chapter 5. Application of the study -----	89
Chapter 6. Information of foreign science and technology-----	91
Chapter 7. Research facilities and equipments -----	92
Chapter 8. Laboratory safety -----	93
Chapter 9. References -----	94
<Supplemental document> 3P analysis -----	101

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 및 성과목표 -----	8
제 1 절	연구개발의 목표	
제 2 절	사업화 내용	
제 3 절	사업화 필요성	
제 4 절	연구개발의 성과목표	
제 2 장	국내외 기술개발 현황 -----	10
제 1 절	국내 케피어 발효유 (티벳버섯 발효유) 제품 동향	
제 2 절	국외 케피어 발효유 (티벳버섯 발효유) 제품 동향	
제 3 절	케피어 발효유 대량생산 기술 개발 동향	
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과 -----	21
제 1 절	연구개발수행 내용	
제 2 절	연구개발수행 결과	
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	88
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	89
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 -----	91
제 7 장	연구시설·장비 현황 -----	92
제 8 장	연구실 안전관리 이행실적 -----	93
제 9 장	참고문헌 -----	94
<첨부서류>	특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서-----	101

제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

제 1 절 연구개발의 목표

커피어 발효유(티벳버섯 발효유)의 대사성 지방간병 예방 기능성 규명 및
신규제품 3종 개발을 통한 고부가가치화

제 2 절 사업화 내용

대사성 지방간병 예방 기능성 커피어 발효유 신규제품 3종 개발

1. 오리지널 커피어 발효유 : 고유의 풍미를 지닌 유산균-효모-초산균 복합발효유
2. 블루베리 커피어 발효유 : 블루베리를 첨가하여 풍미 및 기호성을 향상시킨 발효유
3. 동결건조 커피어 그레인 : 유통기간과 보관성을 향상시킨 발효 스타터

제 3 절 사업화 필요성

- 커피어 발효유는 50종 이상의 유산균, 효모, 초산균이 공생을 이루고 있는 천연 발효유로서 mL당 10억마리 이상의 유산균, 1000만 마리 이상의 유익한 효모와 초산균이 존재하는 발효유임
- 유산균의 젖산발효, 효모의 알코올발효, 초산균의 초산발효가 잘 어우러져 특유의 풍미와 식감을 가지고 있음
- 항암작용, 정장작용, 변비개선효과, 비만개선효과, 당뇨개선효과, 항바이러스작용, 항세균작용 등 건강 유익작용이 다수 보고되어있음
- 최근 대사성 지방간병은 서구화된 식습관 및 활동 감소로 인하여 발생률이 급증하고 있으며, 이 질환을 방치할 경우 최종적으로 간암으로 발전하기 때문에 이에 대한 대처가 필요하나 아직까지 치료제가 존재하지 않는 실정임.

- 따라서, 지방간병에 효과가 높은 기능성식품 개발이 필요함.
- 하지만, 현재 상용화된 커피어 발효유 제품은 질환 개선 효능이 밝혀진 것이 없음.
- 본 기업은 선행연구를 통해 커피어 발효유가 대사성 지방간병에 대한 예방효과가 있음을 확인하였음.
- 본 연구에서는 유산균-효모-초산균 복합 공생체인 커피어 발효유 제품개발과 대사성 지방간병 질환개선 효과를 명확하게 규명하고자 함.
- 또한, 상용화된 제품의 종류는 액상 음료 제품에 국한되어 있어 다양한 제품개발을 통한 기호성 증대와 소비자의 선택의 폭을 넓힐 필요가 있음.
- 따라서, 소비자의 기호성, 유통 용이성 등을 고려하여 오리지널 커피어 발효유, 블루베리 커피어 발효유, 동결건조 커피어 그레인 등 최소 3종 형태의 다양한 제품을 개발하고자 함.
- 본 연구에서는 대사성 지방간병 예방효과가 뛰어난 커피어 발효유 3종 제품 개발을 통해서 특허를 획득하고 상업화에 필요한 연구를 수행하고자 함

제 4 절 연구개발의 성과목표 및 대비 실적

구 분	지식재산권		논문		학술 발표	기술 실시	교육 지도	사업화	기술 인증	인력 양성	정책 활용	홍보 전시	균주 기탁	
	출원	등록	SCI	비 SCI										
최종목표	1	0	1	0	2	1	0	3	0	0	0	1	5	
당해 연도	목표	1	0	1	0	2	1	0	3	0	0	0	1	5
	실적	1	0	1	0	2	1	0	3	0	0	0	1	5
달성율(%)	100	-	100	-	100	100	-	100	-	-	-	100	100	

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내 케피어 발효유 (티벳버섯 발효유) 제품 동향

- 케피어 발효유와 관련된 제품이 판매되고 있는 사례는 타 발효유제품에 비하여 극소수임
- 현장 판매는 거의 이루어지지 않고 있으며, 대부분 인터넷으로 주문 판매되고 있음
- 액상으로 판매되는 케피어S(네이처런스), 동결건조분말 형태로 판매되는 케피어분말(요거메트)가 거의 유일한 판매
- 2010-2012년 (주)더멋진바이오텍 이라는 회사에서는 액상 형태의 ‘헤븐스 케피어’ 및 파우치 형태의 ‘코카시안케피어’라는 제품을 판매하였으나 현재는 절판됨

제품명(제조사)	케피어S (네이처런스)	케피어분말 (요거메트)
제품이미지 (현재 판매중)		 요거메트 요거트 만들기 케피어 종균(티벳버섯분말)
성상	액상발효유	동결건조분말
가격	140ml 한 병당 1,200원	한 포당 5g, 1700원
판매경로	인터넷 주문 판매	인터넷 주문 판매
단점	효능 규명된 바 없음 재조합 케피어	효능 규명된 바 없음 재조합 케피어 분말 수입제품

제품명(제조사)	헤븐스케피어 (더멋진바이오텍)	코카시안케피어 (더멋진바이오텍)
제품이미지 (판매중단제품)		
성상	액상발효유	동결건조분말

※ 국내 시판되고 있는 케피어 발효유의 유형 분류



○ (주)네이처런스사에서 판매중인 케피어플레인의 경우 ‘농후발효유’로 분류되어 판매되고 있었음

○ 식품공전, 축산물의 가공기준 및 성분규격 등 케피어 발효유와 관련된 기준 조사

(사) 표본규모: n=5, c=2, m=0, M=10(별관제출의 경우 용성이여야 한다)
 (아) 포스포타입: 용성이여야 한다(저온장시간 살균제품, 고온단시간 살균제품에 한한다).

(5) 시험방법
 축산물시험방법에 따라 시험한다.

f. 발효유류

(1) 정의
 발효유류라 함은 원유 또는 유가공품을 유산균, 효모로 발효시킨 것이나, 이에 다른 식품 또는 식품첨가물 등을 위생적으로 첨가한 것을 말한다.

(2) 축산물이공품의 유형

(가) 발효유: 원유 또는 유가공품을 발효시킨 것이나, 이에 다른 식품 또는 식품첨가물 등을 위생적으로 첨가한 것으로 무지방고형분 8% 이상의 것을 말한다.

(나) 농후발효유: 원유 또는 유가공품을 발효시킨 것이나, 이에 다른 식품 또는 식품첨가물 등을 위생적으로 첨가한 것으로 초상 또는 액상으로 한 무지방고형분 8% 이상의 것을 말한다.

(다) 크림발효유: 원유 또는 유가공품을 발효시킨 것이나, 이에 다른 식품 또는 식품첨가물 등을 위생적으로 첨가한 것으로 무지방고형분 8% 이상, 유지방 8% 이상의 것을 말한다.

(라) 농후크림발효유: 원유 또는 유가공품을 발효시킨 것이나, 이에 다른 식품 또는 식품첨가물 등을 위생적으로 첨가한 것으로 무지방고형분 8% 이상의 것을 말한다.

(바) 발효유분말: 원유 또는 유가공품을 발효시킨 것이나, 이에 다른 식품 또는 식품첨가물 등을 위생적으로 첨가한 것으로 분말화한 유고형분 8% 이상의 것을 말한다.

(3) 가공기준

(가) 배합원료(유산균, 효모는 제외한다.)는 살균 또는 멸균, 냉각공정을 거친 후 이중 미생물이 오염되지 않도록 유의하여야 한다.

(4) 성분규격

유형	발효유	농후발효유	크림발효유	농후크림발효유	발효버터유	발효유분말
(가) 상상	고유의 색과 향미 특성을 가진 것으로서 이미미가 없어야 한다.	고유의 색과 향미 특성을 가진 것으로서 이미미가 없어야 한다.	고유의 색과 향미 특성을 가진 것으로서 이미미가 없어야 한다.	고유의 색과 향미 특성을 가진 것으로서 이미미가 없어야 한다.	고유의 색과 향미 특성을 가진 것으로서 이미미가 없어야 한다.	고유의 색과 향미 특성을 가진 것으로서 이미미가 없어야 한다.
(나) 수분(%)	-	-	-	-	-	5.0이하
(다) 유고형분(%)	-	-	-	-	-	85이상
(나) 무지방고형분(%)	3.0이상	8.0이상	3.0이상	8.0이상	8.0이상	-
(다) 유지방(%)	-	-	8.0이상	8.0이상	1.5이하	-
(라) 유산균 수	1ml당 10,000.00 이상	1ml당 10,000,000 이상 (단, 효모수)	1ml당 10,000,000 이상	1ml당 100,000.00 이상 (단, 효모수)	1ml당 10,000,000 이상	-
(마) 대장균	n=5, c=2, m=<3, M=10					

(5) 시험방법
 축산물시험방법에 따라 시험한다.

사. 버터유류

(1) 정의

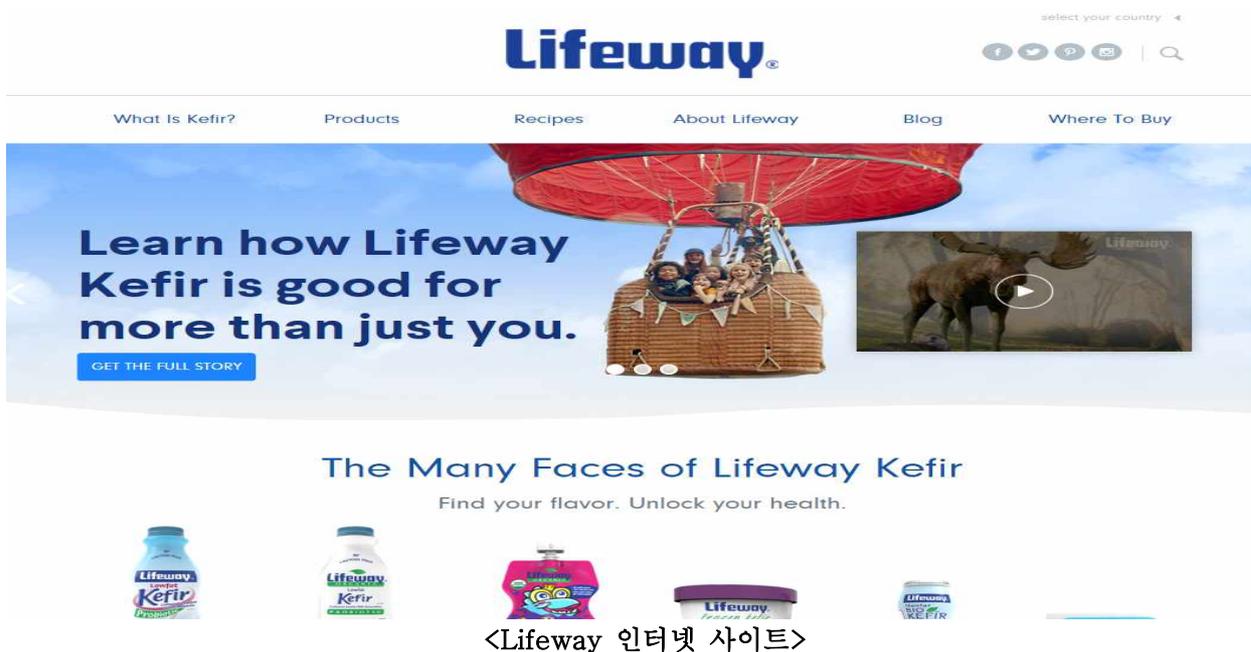
<케피어 발효유는 축산물의 가공기준 및 성분규격에서 제시하는 ‘발효유’에 속함>

따라서, 국내에서 케피어 제품을 생산하여 판매하기 위해서는 발효유 유형의 기준에 적합하도록 제품을 개발하는 것이 바람직함

제 2 절 국외 케피어 발효유 (티벳버섯 발효유) 제품 동향

2-1. 미국

- 미국내 케피어 발효유와 관련된 제품 판매는 우리나라보다 그 제품의 종류가 훨씬 다양하고 전문적임
- 미국내 케피어 발효유 판매 1위를 우점하고있는 회사인 'Lifeway Kefir'의 경우, 케피어 발효유만을 전문적으로 다루는 기업임



<Lifeway 인터넷 사이트>

- 해당 기업에서는 kefir 발효유 단품 뿐 아니라 아이스크림과 치즈 등의 성상 변화 제품도 판매하고 있음
- 대형마트 뿐 아니라 편의점 등 현장에서 쉽게 판매가 이루어지고 있으며, 인터넷으로 주문 판매도 가능함
- 일반적인 액상 케피어 발효유같은 경우에도 하단의 표와 같이 다양한 종류가 판매되고 있음

그 기호에 맞게 단백질함량을 높인제품, 무지방 케피어, 채소 케피어(Veggie kefir) 등 다양한 액상 발효유 종류 및 라임, 블루베리, 오렌지 딸기 등의 다양한 맛이 존재함

제품명 (제조사)	Kefir (Lifeway)	Protein Kefir (Lifeway)	Non Fat Kefir (Lifeway)
제품이미지			
성상	액상 케피어 발효유	액상 케피어 발효유	액상 케피어 발효유
판매경로	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능
특징	12개 strain의 살아있는 프로바이오틱스를 포함하고 있는 발효유제품	프로바이오틱스 뿐 아니라 20g의 단백질을 첨가해 단백질 함유량을 높인 제품	전통적인 케피어 발효유의 모든 성분을 무지방형태로 만든 제품

○ 또한 이처럼 다양한 액상 발효유 뿐 아니라, 어린이를 위한 스무디 형태, 아이스크림, 치즈 등의 다른 가공형태의 발효유제품등도 판매함

○ 해당 발효가공품은 하단의 표에 상세히 설명되어있음

제품명 (제조사)	ProBugs (Lifeway)	Frozen Kefir (Lifeway)	Bio Kefir(Lifeway)
제품이미지			
성상	스무디 형태의 발효유	아이스크림 형태의 케피어	액상 케피어 발효유
판매경로	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능
특징	어린이를 위해 만들어진 제품으로 10개의 살아있는 프로바이오틱스를 함유함	10개의 살아있는 프로바이오틱스를 함유하는 아이스크림 형태의 케피어	Lifeway사에서 판매중인 일반 발효유의 2배의 프로바이오틱스를 함유함

2-2. 터키

- 케피어 발효유의 근원지인 터키에서도 ‘danem’이라는 기업에서 케피어 발효유와 그레인을 전문적으로 판매하고있음
- 케피어 발효유와 관련된 제품 판매는 우리나라보다 그 제품의 종류가 훨씬 다양하고 전문적임
- 케피어 액상 발효유 제품을 판매할 뿐 아니라, 가정에서도 손쉽게 만들 수 있는 요거트형 발효유제품 만들기용 분말도 판매하고 있음

제품명(제조사)	Kefirzadem (danem)	Buyuyo (danem)
제품이미지		
성상	액상발효유	케피어 발효유 요거트 제조분말
가격	250ml 한 병당 1.75TL (710원)	한 포당 4,057원 (2kg 제조가능)
판매경로	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능
특징	250ml, 1000ml 등 대용량도 판매	가정에서 우유와 함께 쉽게 케피어를 만들 수 있음 케피어 유래 유산균 포함

- 실제 편의점이나 마트등에 진열 된 모습을 볼 수 있을 정도로, 케피어 발효유 근원지답게 다른 유제품과 유사한 경로로 판매되고 있음



<실제 마트에서 판매되는 사진>

- 또한 해당 기업의 독자적인 방법을 이용해, 케피어 그레인 내의 미생물을 그대로 복원한 발효 스타터용 분말종류도 판매하고있다는 특징을 가짐
- 보관기간이 긴 동결건조분말은 유통하기가 편리하지만, 한번 배양용이라는 단점을 보완해 실제 그레인을 유리용기에 담아서 판매하는 ‘bunyudanem’제품도 있음
- 상기의 제품은 이후 계대를 통해서 케피어 발효유를 가정내에서 계속 만들 수 있다는 장점을 가진 상품임

제품명 (제조사)	Buyudanem (danem)	Endanem (danem)	Sevdanem (danem)
제품이미지			
성상 가격	고체 케피어 그레인 한 병당 30TL(12,172원)	케피어 배양 동결건조 분말 한 포당 30TL(12,172원)	케피어 배양 동결건조 분말 한 포당 10TL(4,057원)
판매경로	특정 마트 및 인터넷 주문 가능	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능
특징	2g의 그레인이 들어있어 직접 케피어 발효유를 반복적으로 제조할 수 있는 제품	독자적 방법으로 개발하여 특히 보유 케피어내 특이적 미생물들을 보존한 제품	케피어내 자연 존재 미생물들을 동결건조함 그레인은 포함되지 않음

2-3. 캐나다

- 캐나다에서도 미국과 마찬가지로 다양한 형태의 케피어 발효유 제품 및 가공품을 판매할 수 있음
- 캐나다의 유가공업체인 'LIBERTE'는 요거트와 치즈, 버터 등의 제품을 파는 업체임
- 이 제조사는 한 개의 유제품 카테고리로서 케피어 발효유 및 떠먹는 케피어 제품을 판매하고 있음
- 또한 해당 국가의 업체는 케피어의 특유의 맛을 억제하기 위해 다양한 맛을 첨가한 제품을 판매할 뿐 아니라, 유기농 제품도 판매해서 차별성을 부과함
- 또한 제품 내에는 10종류의 프로바이오틱스를 포함하고 있음

제품명 (제조사)	Plain 2% (LIBERTE)	Effervescent Organic - Plain 2% (LIBERTE)	Organic - Raspberry 2% (LIBERTE)
제품이미지			
성상	액상 발효유	떠먹는 케피어 발효유	라즈베리향 첨가 액상 발효유
판매경로	편의점 및 마트 인터넷 판매도 가능	편의점 및 마트 인터넷 판매도 가능	편의점 및 마트 인터넷 판매도 가능
특징	10개 strain의 프로바이오틱스를 포함하며, 제품 250ml당 2십억개의 프로바이오틱스를 함유하고 있음	20개의 다양한 종류의 유산균과 효모를 포함하고 있음 (1스푼당 5십억개의 효과 미생물함유)	10개 strain의 프로바이오틱스를 포함 상큼한 라즈베리향을 첨가해 기호성을 높임

제 3 절 케피어 발효유 대량생산 기술 개발 동향

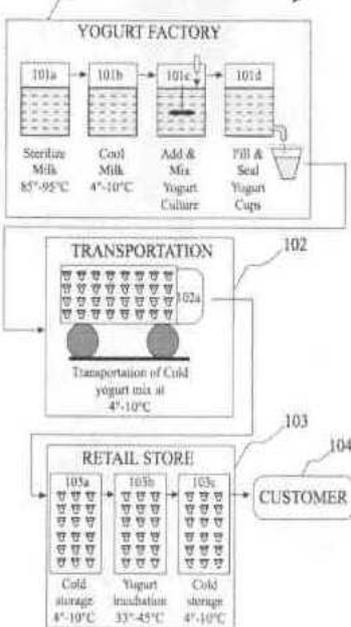
○ 기존에 개발되어 있는 케피어 생산 방식은 크게 2가지 있었으며, 본 연구를 통하여 본사가 개발해낸 케피어 대량생산 기술과 특징을 비교해보았음

<우리나라>

구분	그레인 사용 방식	혼합 균주 사용 방식	본사 개발 기술
출원번호	10-2004-0051218	10-2013-0021346	10-2015-0172528
특허명	티벳버섯 발효유	혼합발효방식을 이용하여 제조된 변비 개선용 요구르트 및 이의 제조방법	떠먹는 케피어 대량생산 기술
스타터	케피어 그레인	임의적 혼합균주	케피어 발효액
기술의 특징	<ol style="list-style-type: none"> 1. 생산효율이 낮음 (케피어 그레인 양의 10~50배 정도 생산가능) 2. 유청분리가 빠르게 이루어져 유통기한이 제한적임 (48시간 이내) 3. 액상발효유 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 코텍스의 정의에 따르면 케피어는 케피어 그레인에서 유래된 균주로 만들어진 발효유임 하지만, 상기 기술들은 케피어 그레인 유래가 아닌 유산균과 효모를 스타터로 사용하여 케피어 발효유와 맛만 비슷함 (Streptotoccus lactis, Streptococcus cremoris, Streptococcus diacetylactis, Lactobacillus casei var rhamnosus, Lactobacillus acidophilus, Saccharomces lactis, Bifidobacterium spp. 등) 2. 액상 발효유 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 생산효율이 높음 (케피어 그레인 양의 400배 생산 가능) 2. 유청분리가 7일까지 발생하지 않음 (유통기간 연장) 3. 케피어 그레인 유래 균주들을 고농도 함유함 (Lactobacillus kefiranofaciens, lactobacillus kefiri, lactobacillus parakefiri, Kluyveromyces marxianus, Saccharomyces unisporus, Acetobacter spp. 등) 4. 액상이 아닌 호상 발효유 (점도가 높아 떠먹을 수 있음)

○ 국외 케피어 및 기타 발효유의 대량 생산 기술 및 특징 조사

<미국>

구분	동결 건조 제품 활용	자동화 생산 시스템 활용	유산균 성장촉진제 활용
출원번호	05522862	12798550	10048447
특허명	Preparation of acidophil milk in powder form	Process and system for delivering fresh yogurt or kefir	Fermented milk drinks and foods and process for producing the same
스타터	acidophil bacteria	케피어 발효액 및 발효유 스타터	케피어 발효액 및 발효유 스타터
기술의 특징	<p>1. acidophil bacteria로 발효시킨 우유를 분말 형태로 동결 건조시켜 발효유 및 케피어 생산 시 추가 스타터로 활용</p> <p>2. 분말 형태로 저장함으로써 생산 공정 시의 균주 생존률을 높여 발효유의 기능성을 개선</p> <p>3. 발효유 및 케피어 대량 생산 시에 저하될 수 있는 기능성 보완</p>	<p>1. 발효유 및 케피어 공정 단계별로 요구되는 온도/시간 조건을 맞출 수 있는 대량생산 시스템</p> <p>2. 단계 이동 시 파이프를 Open/Close 시스템으로 관리하여 최적 생산 조건 구축</p>  <p><생산 공정도></p>	<p>1. 생강 추출물, 차 추출물, 생과 추출물 또는 올레산 등의 유산균 성장 촉진 물질 첨가</p> <p>2. 저농도의 케피어 발효액 및 발효유 스타터로 대량생산이 가능하게 함 (생산효율 증대)</p>

<유럽>

구분	스타터 생존률 개선	식품 안정제 활용 (collagen, pectin)	식품안정제 활용 (hemicellulose)																											
출원번호	07831075.2	01926142.9	99101572.8																											
특허명	Method of producing fermented milk using novel lactic acid bacterium	Stable acidic milk drinks, process for producing the same	Method for producing acidic milk beverage																											
스타터	Bifidobacterium Lactococcus	케피어 발효유 및 발효유 스타터	케피어 발효유 및 발효유 스타터																											
기술의 특징	<p>1. 발효유 대량 생산 시의 Bifidobacterium의 Survivability를 30% 이상 개선하는 공정법</p> <p>2. 스타터로 사용할 Bifidobacterium 균주를 10% 탈지유 첨가 배지에 25℃~37℃에 16시간 키워 pH가 4.4~4.6 정도가 되게 함</p> <p>3. rapid cooling 후에 10℃에 보관한 후 생산 공정에 사용</p>	<p>1. 케피어 및 발효유 대량 생산 시의 제품 안전성을 위한 collagen peptide 첨가 공정법</p> <p>2. collagen를 가수분해 한 후 첨가하여 발효유 섭취 시의 불편함을 최소화</p> <p>3. collagen과 Pectin의 최적농도 평가를 위한 점성 평가 실시</p> <table border="1" data-bbox="694 1339 1050 1727"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Pectin (%)</th> <th colspan="3">Collagen (%)</th> </tr> <tr> <th>1.0</th> <th>2.0</th> <th>5.0</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.1</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>0.2</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>0.3</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>0.6</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>1.0</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table> <p><Pectin과 Collagen 최적농도 평가 실험></p>	Pectin (%)	Collagen (%)			1.0	2.0	5.0	0.1	2	3	3	0.2	1	2	2	0.3	1	1	2	0.6	1	1	2	1.0	1	1	1	<p>1. 수용성 헤미셀룰로오스(water-soluble hemicellulose)를 첨가하는 공정법</p> <p>2. 본 방법을 통하여 발효 및 저장기간 시의 유청분리 및 침전을 완화 시키고 향상된 풍미를 얻을 수 있음</p>
Pectin (%)	Collagen (%)																													
	1.0	2.0	5.0																											
0.1	2	3	3																											
0.2	1	2	2																											
0.3	1	1	2																											
0.6	1	1	2																											
1.0	1	1	1																											

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발수행 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도	2015	◆ 커피어 그레인 활성 최적화 : 발효유 제조 공정 개발	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 커피어 그레인 활성 분석 이용한 대량 생산 조건 확립 ❖ 커피어 그레인 내 핵심 균주 모니터링 기술 활용 ❖ 발효 온도, 발효 시간, 우유-그레인 비율별 활성 분석 및 그레인 증량 분석을 통한 최적 발효조건 확립
		◆ 기존제품 대비 대사성 지방간 예방 기능 우수성 입증	<ul style="list-style-type: none"> ❖ in vivo 실험을 통한 지방간 개선효과의 과학적 근거 확보 (통계학적 유의성 검증) ❖ 섭취 전후 혈중지질 및 조직학적 평가 ❖ 기존 제품의 효능과 비교하여 신규 제품 기능성의 우수성 입증
		◆ 대량생산기술 및 동결건조 기술을 활용한 3종 시제품 개발	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 오리지널 커피어 발효유 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 기호성 향상, 유통기한 산정, 품질관리, 대량생산기술, 포장 ❖ 블루베리 커피어 발효유 ❖ 커피어 그레인 동결건조 제품 <ul style="list-style-type: none"> - 동결건조기, 포장기술
		◆ 웹사이트 판매망 구축 및 제품 출시	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 본사 홈페이지에 건강식품 컨텐츠 개설을 통한 판매망 구축 ❖ 공개 시음회 통한 제품 홍보 ❖ 품질관리 기술 관련 특허 출원 및 균주 기탁 ❖ 제품출시를 위한 시장분석 ❖ 최종 제품 출시

제 2 절 연구개발수행 결과

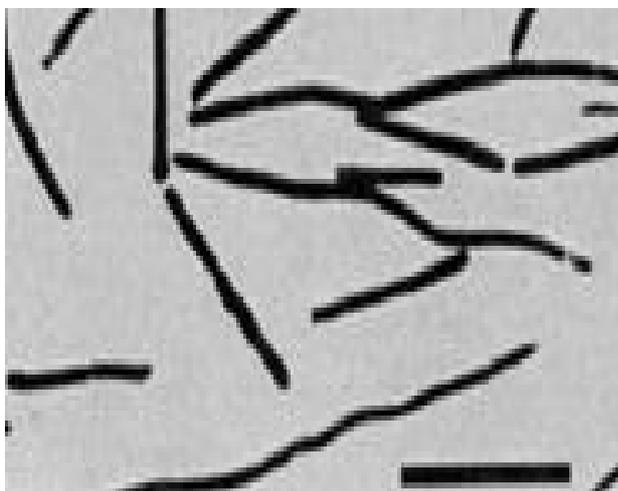
1. 케피어 그레인 활성 최적화 : 발효유 제조 공정 개발

(1) 케피어 그레인 활성 분석 이용한 대량생산 조건 확립

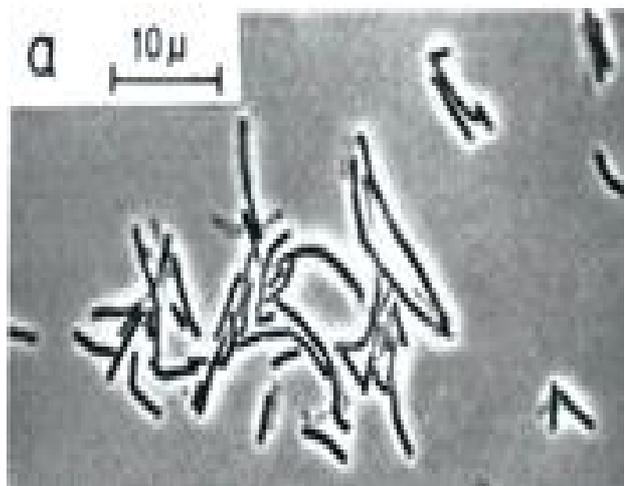
- 케피어 그레인 활성을 분석해보았음
- 케피어 그레인 내 포함되어 있는 핵심 미생물인 *Lb. kefiranofaciens* 및 *Lb. kefir*를 본사의 분석 기술을 활용하여 정량해보았음

Sample	Log CFU per gram or milliliter of kefir grain and milk	
	<i>Lb. kefiranofaciens</i>	<i>Lb. kefir</i>
Kefir grain	7.64 ± 0.61	6.16 ± 0.38
Kefir milk	5.67 ± 0.44	4.64 ± 0.35

- 활성 분석을 실시해 본 결과, 본사의 케피어 그레인 내에는 케피어의 핵심 균주라 할 수 있는 *Lb. kefiranofaciens*, *Lb. kefir* 균이 고농도로 함유되어 있음을 확인하였음



<*Lactobacillus kefiranofaciens*>



<*Lactobacillus kefir*>

- 핵심 케피어 미생물 분석에 이어, 본사 보유 기술을 활용하여 케피어 그레인의 종합 미생물 총 분석을 실시하였음
- 케피어를 구성하는 미생물 그룹, 즉 유산균(Lactobacillus/Lactococcus group, Streptococcus group, Enterococcus group, Bifidobacteria group), 효모 (Candida group and Saccharomyces group), 초산균에 대한 정량분석을 실시하였음

Sample	Log CFU per gram of Kefir grain
Lactic acid bacteria	9.83 ± 0.73
Lactobacillus/Lactococcus	9.12 ± 0.54
Streptococcus	6.43 ± 0.78
Enterococcus	5.44 ± 0.55
Bifidobacteria	0.00 ± 0.00
Total yeast	8.75 ± 0.64
Candida	8.11 ± 0.13
Saccharomyces	8.08 ± 0.34
Acetic acid bacteria	8.43 ± 1.12

- 활성 분석을 실시해 본 결과, 본사의 케피어 그레인 내에는 고농도의 유산균, 초산균, 효모가 함유되어 있음을 확인함
- 위와 같은 활성 분석 결과를 바탕으로 본사의 케피어 그레인을 케피어 발효유 생산에 사용할 수 있을 것으로 판단하였음

(2) 케피어 그레인 내 핵심 균주 모니터링 기술 활용

Codex alimentarius – fermented milk 식품규격

CODEX STANDARD FOR FERMENTED MILKS

CODEX STAN 243-2003

1. SCOPE

This standard applies to fermented milks, that is Fermented Milk including, Heat Treated Fermented Milks, Concentrated Fermented Milks and composite milk products based on these products, for direct consumption or further processing in conformity with the definitions in Section 2 of this Standard.

2. DESCRIPTION

2.1 *Fermented Milk* is a milk product obtained by fermentation of milk, which milk may have been manufactured from products obtained from milk with or without compositional modification as limited by the provision in Section 3.3, by the action of suitable microorganisms and resulting in reduction of pH with or without coagulation (iso-electric precipitation). These starter microorganisms shall be viable, active and abundant in the product to the date of minimum durability. If the product is heat-treated after fermentation the requirement for viable microorganisms does not apply.

Certain Fermented Milks are characterized by specific starter culture(s) used for fermentation as follows:

Yoghurt:	Symbiotic cultures of <i>Streptococcus thermophilus</i> and <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> .
Alternate Culture Yoghurt:	Cultures of <i>Streptococcus thermophilus</i> and any <i>Lactobacillus</i> species.
Acidophilus Milk:	<i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Kefir:	Starter culture prepared from kefir grains, <i>Lactobacillus kefiri</i> , species of the genera <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> and <i>Acetobacter</i> growing in a strong specific relationship. Kefir grains constitute both lactose fermenting yeasts (<i>Kluyveromyces marxianus</i>) and non-lactose-fermenting yeasts (<i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Saccharomyces exiguus</i>).
Kumys:	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> and <i>Kluyveromyces marxianus</i> .

Other microorganisms than those constituting the specific starter culture(s) specified above may be added.

	Fermented Milk	Yoghurt, Alternate Culture Yoghurt and Acidophilus milk	Kefir	Kumys
Sum of microorganisms constituting the starter culture defined in section 2.1 (cfu/g, in total)	min. 10 ⁷	min. 10 ⁷	min. 10 ⁷	min. 10 ⁷
Labelled microorganisms ^(b) (cfu/g, total)	min. 10 ⁶	min. 10 ⁶		
Yeasts (cfu/g)			min. 10 ⁴	min. 10 ⁴

(a) Protein content is 6.38 multiplied by the total Kjeldahl nitrogen determined.
 (b) Applies where a content claim is made in the labelling that refers to the presence of a specific microorganism (other than those specified in section 2.1 for the product concerned) that has been added as a supplement to the specific starter culture.

○ 코덱스국제식품규격

- 코덱스국제식품규격은 식품에 대한 전 세계적으로 통용될 수 있는 기준 및 규격 등을 규정한 식품 법령임
- 이는 FAO와 WHO의 합동식품규격작업의 일환으로 설립된 정부간 협의기구인 codex에서 제시하는 것으로 식품의 규격(standard), 지침(Guideline), 실행규범(Code of Practice) 등의 설정을 통하여 소비자의 건강보호를 목적으로함
- 이를 통해 식품위생 및 품질에 대한 국제적인 기본규약을 제공하고, 식품의 국가간 교역에 있어 국제통상 위생기준으로의 역할을 수행함

○ 코덱스 - 발효유 규격

- 발효유란 우유의 발효로서 만들어지는 산물로, 우유에서 만들어지며 규정된 내에서 조성변화가 일어날 수 있음. (조성변화 규정- 발효유: 유단백 최소 2.7%, 유지방 10% 이내, 적정할 수 있는 산도 최소 0.3%; 케피어: 유단백 최소 2.7%, 유지방 10% 이내, 적정할 수 있는 산도 최소 0.6%)
- 이는 적합한 미생물의 작용에 의해서 생성되며, 결과적으로 발효유의 pH가 감소하거나 응고 등이 일어남(등전 침전).
- 발효에 사용된 스타터 미생물은 발효유제품에서 최소한의 내구력을 나타내는 기간 까지 살아있어야하며, 작용을 나타내고 풍부해야함. 만
- 약 제품이 발효 후에 가열되었다면 살아있는 미생물에 대한 조건은 적용되지 않음

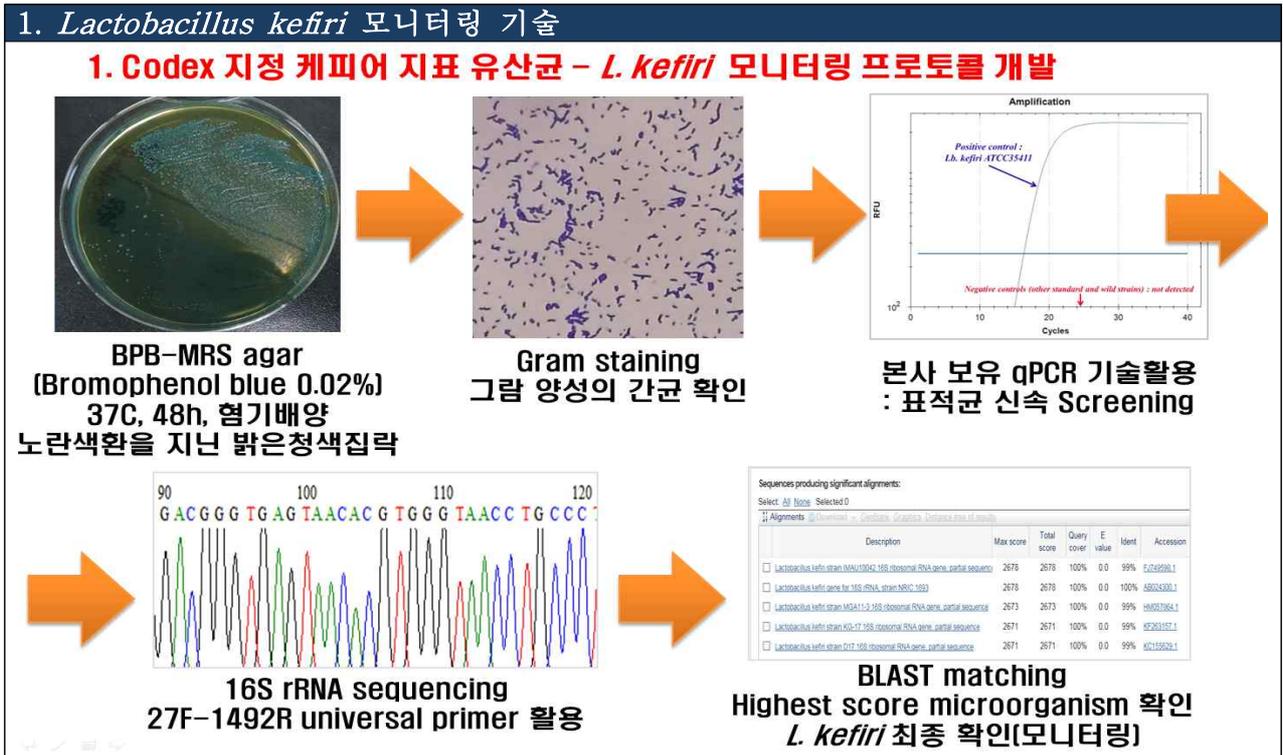
○ 케피어의 정의

- ‘케피어’는 코카서스 북부지역의 전통발효유로, 락토오스를 발효시키는 효모와 젖산균이 함유된 케피어 그레인에 우유를 가하면 발효가 일어나 알코올, 이산화탄소, lactic acid를 생성해 특유한 향미를 내는 발효유임
- Lactobacillus kefir, 로오코노스톡젖산균(Leuconostoc), 젖산구균(Streptococcus) 등의 젖산균 및 Kluyveromyces marxianus등의 젖당발효성효모, Saccharomyces unisporus등의 효모를 포함하는 케피어 그레인(kefir grain)이 특징적인데, 이는 케피어 발효의 스타터 입자로 작용함.
- 발효의 초기는 젖산균에 의한 젖산발효가, 이어 젖당발효성효모에 의한 알코올발효가 일어나 특유의 풍취를 나타냄

○ 케피어의 미생물 기준

미생물기준	Kefir
스타터 배양에 포함되는 미생물의 수 합계 (cfu/g)	최소 10^7
표기된 미생물수 (cfu/g) (제품에 특정 미생물이 포함되어있다고 표기된 경우)	-
효모수 (cfu/g)	최소 10^4

- 케피어 그레인 내 핵심 균주로 Codex 식품규격에서 케피어의 지표 미생물로 지정하고 있는 대표 유산균(*Lactobacillus kefir*) 모니터링 기술 개발



- 위와 같이 Codex지정 케피어 지표 미생물에 대한 모니터링 프로토콜을 개발하였음
- 개발된 프로토콜을 활용하여 정기적으로 케피어 그레인 및 발효유 품질관리에 활용함

(3) 발효 온도, 발효 시간, 우유-그레인 비율별 활성 분석 및 그레인 증량 분석을 통한 최적 발효조건 확립

- 연구 개시 시점에 케피어 발효유 스타터인 케피어 그레인을 233g 확보하고 있었음
- 연구 종료 시점에, 총 5,215g의 케피어 그레인을 보유하고 있었음
- 1년의 연구 기간 동안 스타터를 약 26배 증량하였음

시점	연구 개시	연구 종료
사진		
그레인의 양	233 g	5,215g
생산 가능 발효유량	80 L/day	2,086 L
증가율	26배 증가	

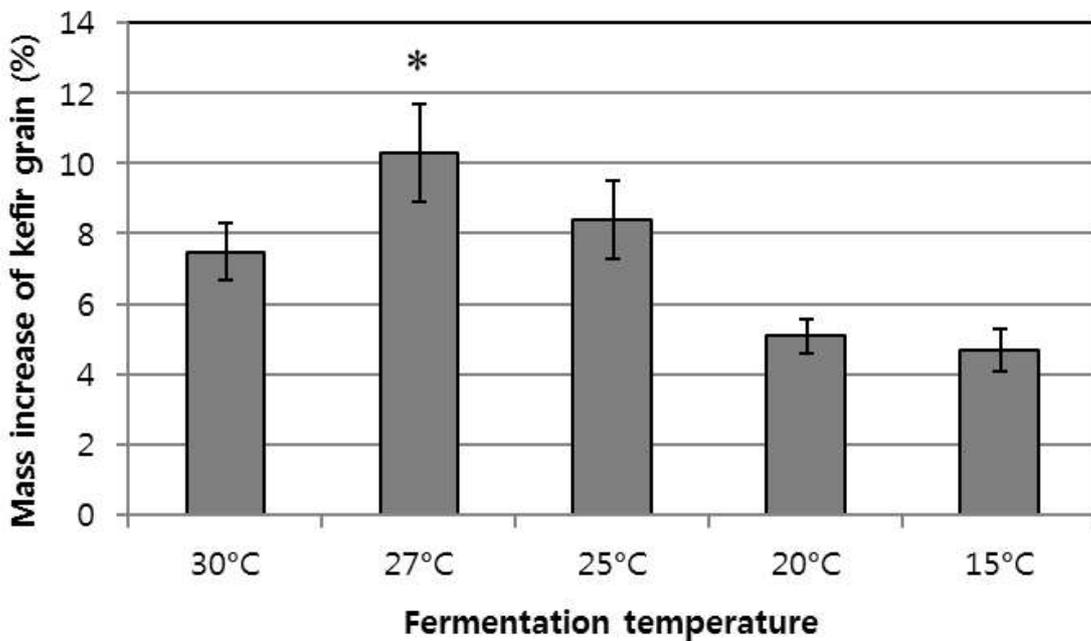
- 증량된 케피어 그레인은 케피어 발효유 생산 및 동결건조 케피어 그레인 제품 생산에 활용되었음

○ 케피어 그레인 매스 증가율을 최대화시키기 위해서 다양한 배양 조건에서 실험을 실시하여 최적 발효 조건을 확립하였음

○ 배양조건

- Kefir grain-milk ratio : 5% (w/v)
- 15°C, 20°C, 25°C, 27°C, 30°C
- 배양시간 : 24 시간

<발효 조건별 케피어 그레인 매스 증가율>



○ 위 그림에서 볼 수 있듯, 케피어 그레인의 증가율은 27°C에서 가장 높게 나타났음 ($p < 0.05$).

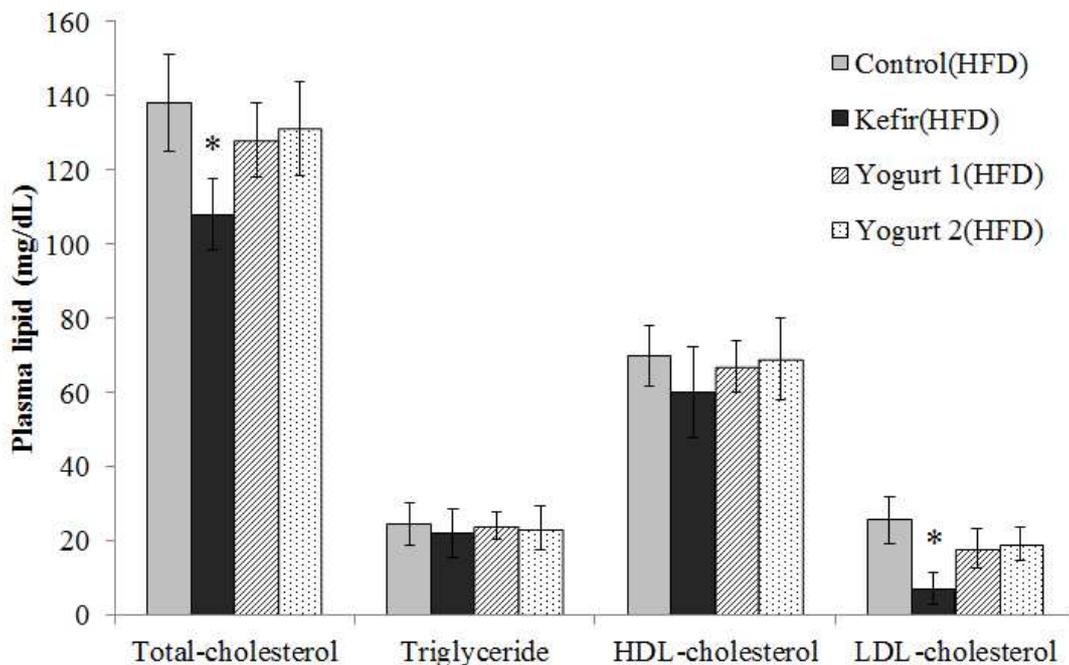
○ 따라서, 본사에서 케피어 그레인 증량을 할 때에는 27°C, 24시간, 5% (w/v)로 꾸준히 배양 하며 케피어 그레인을 모아 추후 연구 및 제품 생산에 활용하였음

2. 기존제품 대비 대사성 지방간 예방 기능 우수성 입증

(1) in vivo 실험을 통한 지방간 개선효과의 과학적 근거 확보 (통계학적 유의성 검증) : 섭취 전후 혈중지질 및 조직학적 평가

1) 섭취 전후 혈중지질 비교

- 본 연구팀이 생산한 케피어 발효유와 시중에서 판매되고 있는 기존 발효유 제품을 실험동물에 5주 동안 투여한 후 혈중 지질 농도를 비교해보았음
- 동물 모델로는 B6-DIO 모델 (C57BL/6 diet-induced obesity model)을 사용하였음
- 60% high fat diet를 자유공급한 마우스에 케피어 발효유 및 기존 시판 발효유를 매일 투여하여 혈중 지질 농도 저하를 비교하여 보았음



- 비교 결과, 기존 시판 발효유 2종의 경우 Control 그룹과 비교해 보았을 때 혈중지질의 농도가 차이가 없었음
- 하지만, Kefir를 섭취한 그룹의 경우 Total cholesterol 및 LDL cholesterol이 유의적으로 감

소하는 것을 확인하였음 ($p < 0.05$, ANOVA-Duncan's test)

- 이로 미루어보아, 본 사에서 개발한 케피어 발효유가 기존 시판 발효유와 비교하였을 때 고지방식이를 섭취한 동물의 혈중 지질 농도 저하에 더욱 뛰어난 효능을 가지고 있음을 확인할 수 있었음

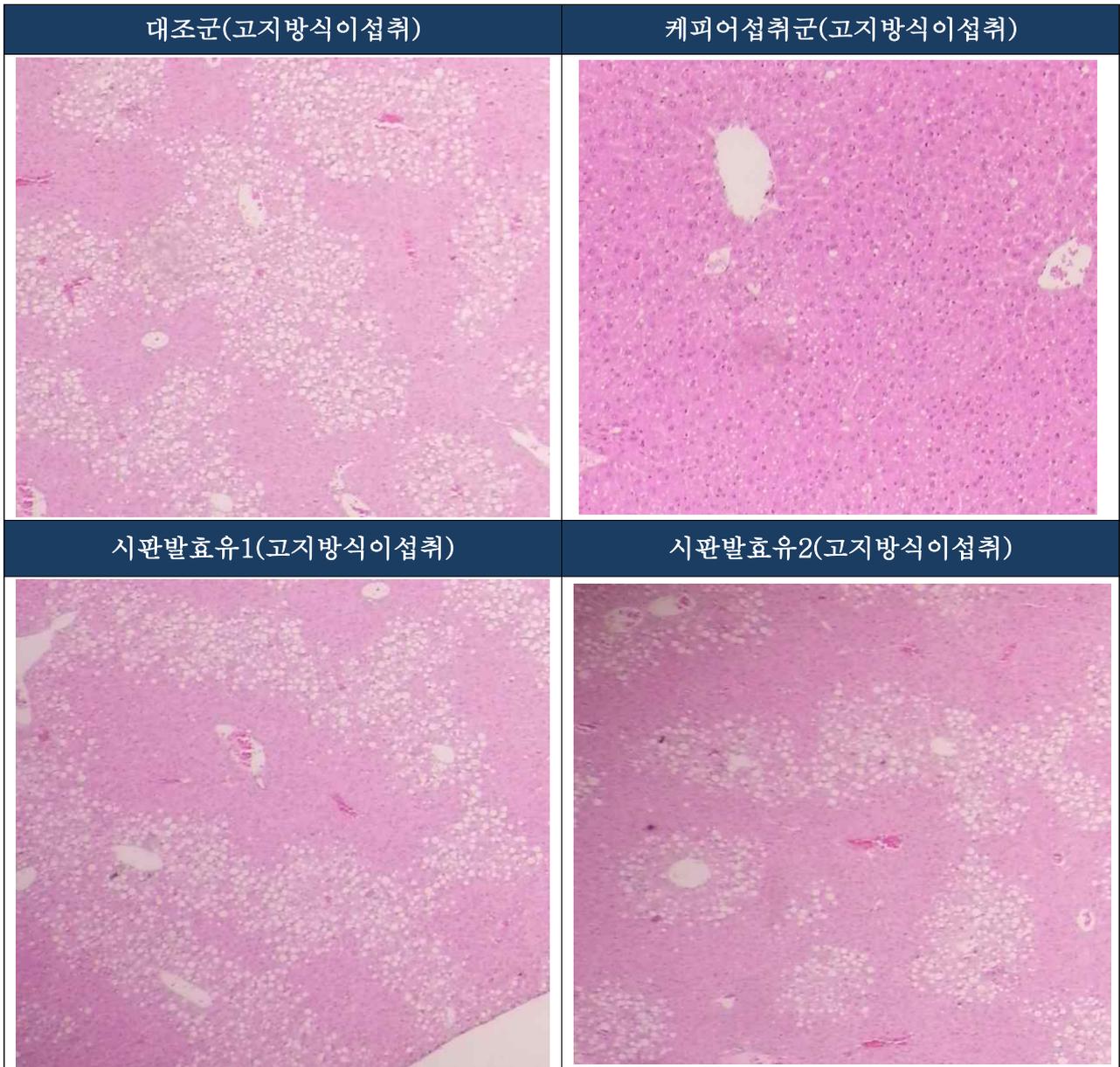
2) 섭취전후 조직학적 평가

- 상기 실험에서 지방간 병변 평가를 위하여 실험 마지막날 동물을 sacrifice 한 후 간 조직 절편을 제작하여 지방간을 평가하였음



- 육안병변 비교시, 고지방식이를 섭취한 마우스의 간은 색택이 황색 빛깔을 띠며 변연부가 예리하지 못하고, 크기가 큰 것을 확인하였음
- 케피어 섭취군의 경우 색택은 약한 황색, 변연부는 예리하며 크기가 고지방식이를 섭취한 마우스의 간보다 작은 것을 확인하였음
- 이후, 본격적인 조직학적 평가를 실시하기 위해서 간 조직을 10% neutral formalin에 고정, processing을 실시, Paraffin embedding후 4um 두께로 section 하여 HE염색을 실시하였음

○ 실험 결과



- 상기 그림에서 볼 수 있듯, 대조군마우스에서는 확연하게 지방간이 발생한 것을 확인할 수 있었음
- 시판발효유 1, 2 섭취군의 경우 정도가 약하긴 하나 여전히 지방간이 확연하게 발생할 것을 확인하였음
- 하지만, 케피어 발효유 섭취군의 경우 지방간 발생이 거의 되지 않음을 확인함
- 결론적으로, 본사에서 개발한 케피어 발효유가 기존 제품에 비하여 지방간 예방 기능성이 뛰어난 것을 확인할 수 있었음

(2) 기존 제품의 효능과 비교하여 신규 제품 기능성의 우수성 입증

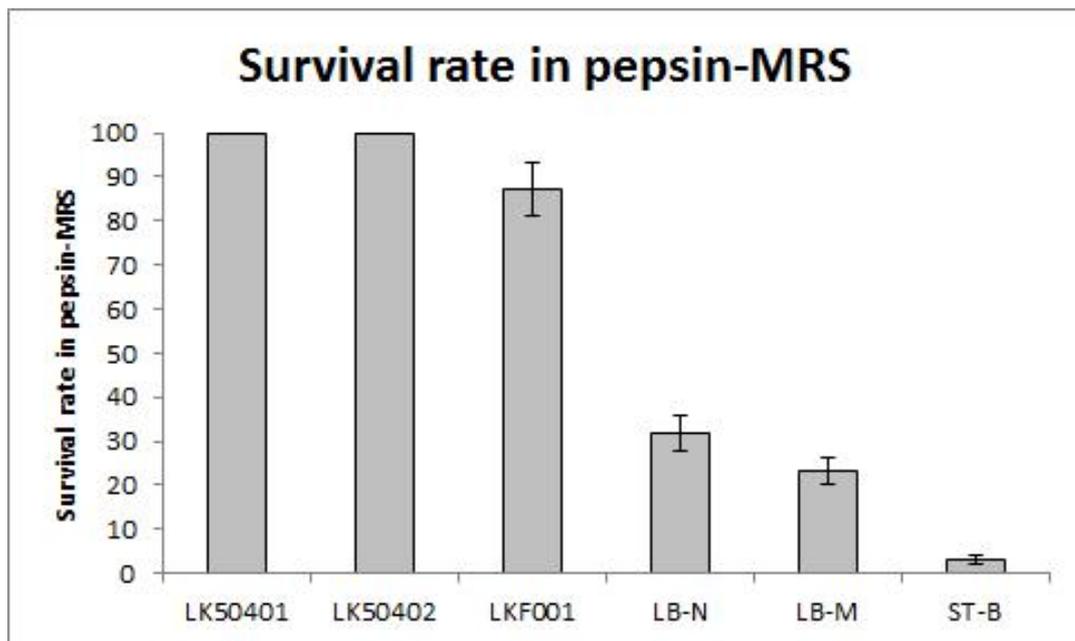
○ 본사에서 생산한 케피어 제품에서 분리한 균주들과 시판되고 있는 제품들의 균주들의 소화관 생존능, in vitro상의 cholesterol reduction 능력을 평가해 보았음

○ 실험에 사용한 균주

번호	균주명	분리원
1	Lactobacillus kefir KU50401	본사 케피어
2	Lactobacillus kefir KU50402	본사 케피어
3	Lactobacillus kefiranofaciens DH001	본사 케피어
4	Lactobacillus bulgaricus N	N사 발효유
5	Lactobacillus bulgaricus M	M사 발효유
6	Streptococcus thermophilus	B사 발효유

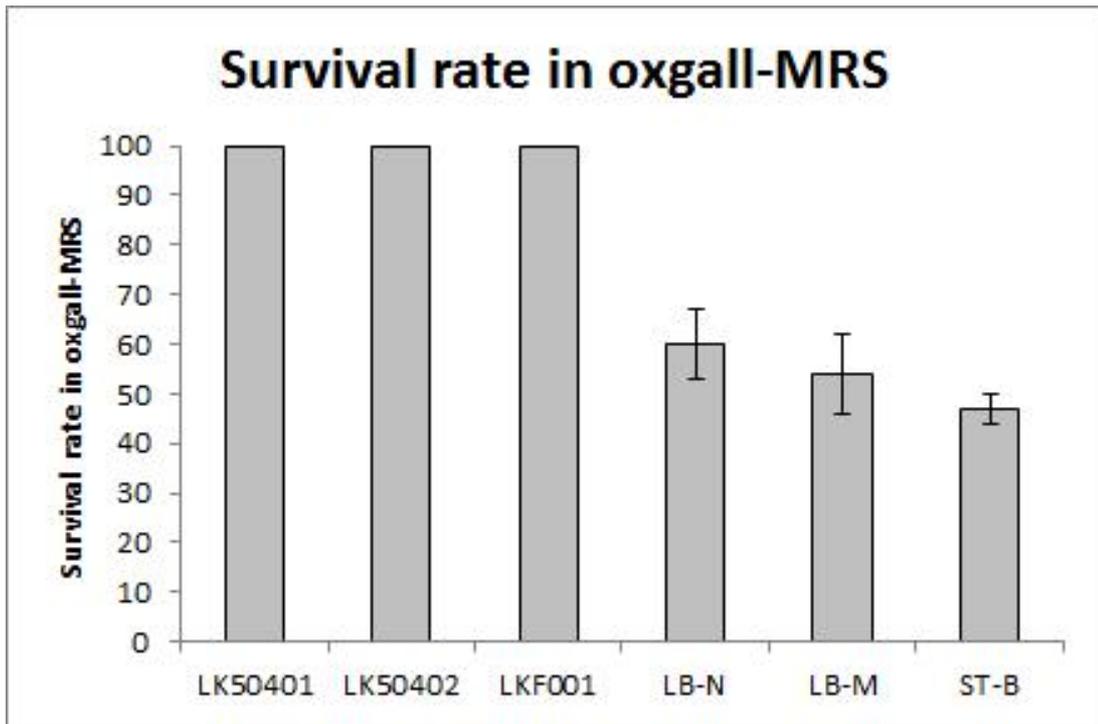
○ 소화관 생존능 평가는 위 생존능 평가, 장관 생존능 평가로 이루어짐

○ 위 생존능 평가는 modified MRS (pepsin at pH 2.5)상에서 2시간동안 배양시 생존율을 %로 나타낸 것임



○ 실험 결과, 케피어 분리균주는 모두 85%이상의 생존율을 나타냈으나, 기존 발효유 분리 균주들은 모두 30% 이하의 생존율을 나타내었음

- 장관 생존능 평가는 modified MRS (0.3% oxgall, pH8) 배지에서 24시간동안 배양시 생존율을 %로 나타낸 것임

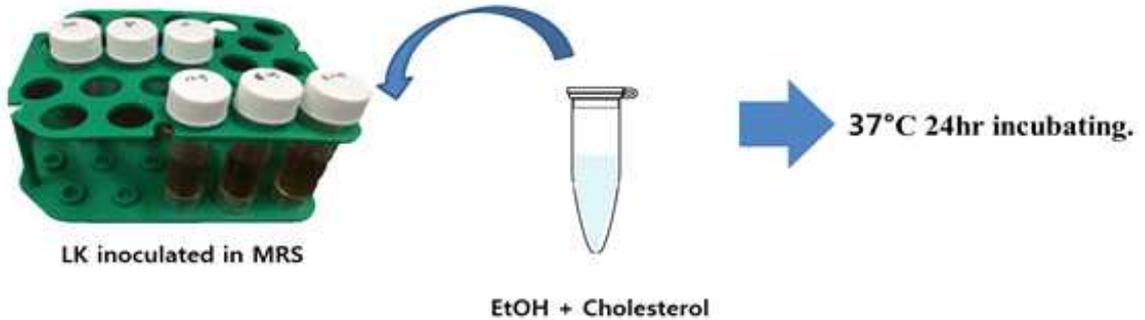


- 장관 생존능 평가 결과, 케피어 분리균주는 모두 100%의 생존율을 나타내었으나, 기존 발효유 분리 균주들은 40-50%의 생존율을 나타내었음
- 이처럼, 케피어 분리균주들은 위산, 펩신, 담즙 등 가혹한 환경에서도 생존성이 매우 뛰어난 것을 확인할 수 있었는데, 그 이유는 이미 케피어 내에서 50종 이상의 균주들의 공생계 속에서 경쟁을 통해 생존을 유지하고 있는 균들이기 때문에, 소화관의 가혹한 환경에서도 기존 단일 스타터 균주들보다 훨씬 생존능이 강한 것으로 판단됨
- 본 연구 결과를 토대로 판단하였을 때, 본사에서 생산한 케피어 제품을 섭취할 경우 다수의 생균이 소화관 내에서 활성을 나타낼 수 있을 것으로 사료됨
- 또한, 개별 케피어 분리균주들을 이용한 제품개발 및 기능성 연구도 이루어지면 좋을 것으로 판단됨

○ in vitro Cholesterol reduction 평가에는 modified Rodel and Morris법을 사용하였음

<실험법 - modified Rodel and Morris cholesterol analysis - Flow chart >

1. 에탄올에 콜레스테롤을 녹여 LK가 접종된 MRS에 첨가한 뒤 37°C에서 24시간 배양



2. 필요한 다섯가지 시약 준비



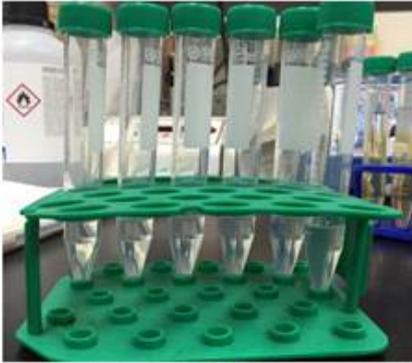
3. 2 mL MRS 상층액을 따서 2 mL KOH (33%, w/v), 3 mL 97% ethanol 과 섞어준 뒤 60°C 5분간 배양



4. 용액을 식힌 후 5 mL hexane, 3 mL aliquot of distilled water 를 넣고 phase separation이 되게 상온에 정치



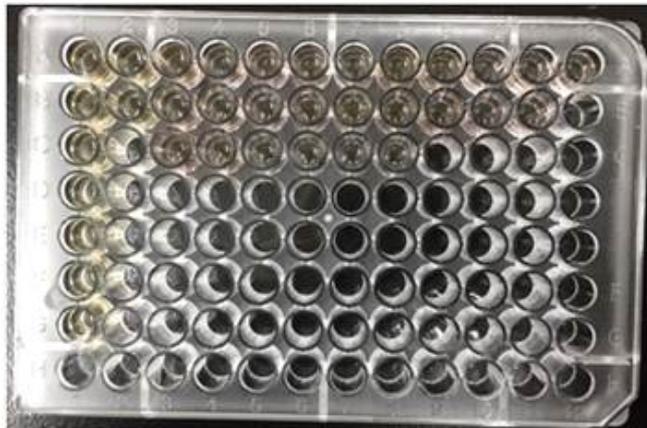
5. 2.5 mL hexane layer fluid 를 새 튜브에 옮기고 질소농축기로 농축 ([10 psi, 40°C, 20 min](#))



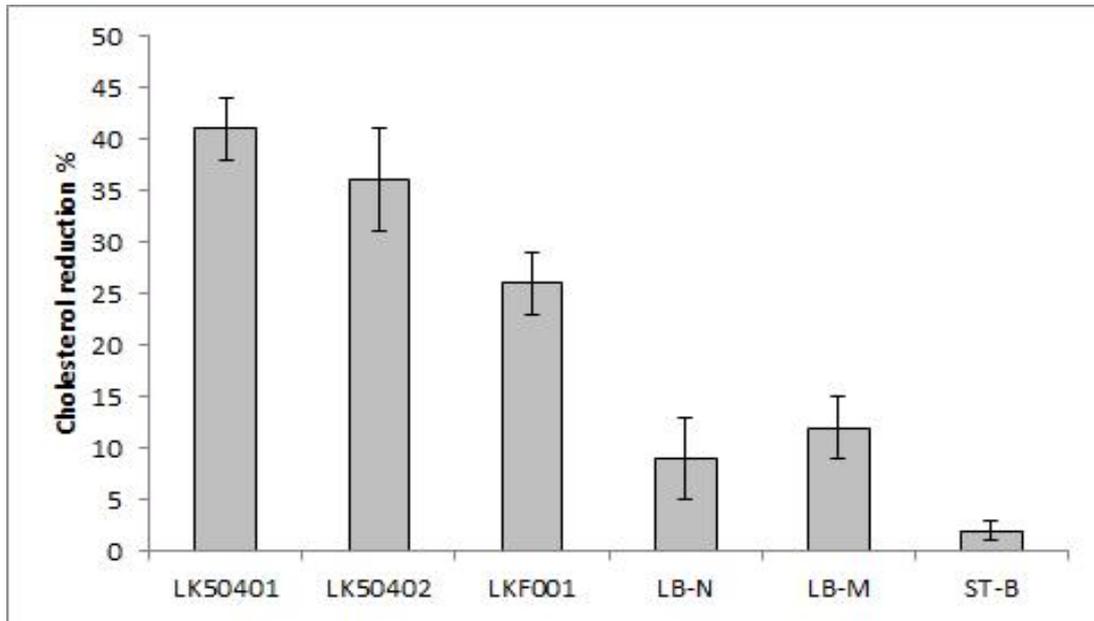
6. 4 mL of *o*-phthalaldehyde reagent 를 넣고 마지막으로 2 mL of sulfuric acid 를 첨가한 뒤 10분간 반응



7. 흡광도를 [595 nm](#) 에서 microplate reader (Multiskan FC; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 로 측정



○ 실험 결과



- 상기 그림에서 볼 수 있듯, 본사의 케피어에서 분리한 *Lactobacillus kefir* 및 *Lactobacillus kefiranofaciens*균은 각각 30%, 25% 이상의 Cholesterol reduction 능력을 보였으나. 기존 제품의 균주들은 10% 이하의 cholesterol 저하능을 보였음
- 본 결과로 미루어 보아, 본사의 케피어 발효유 제품의 콜레스테롤 대사 관련 기능성이 더욱 우수한 것으로 사료됨

3. 대량생산기술 및 동결건조 기술을 활용한 3종 시제품 개발

(1) 오리지널 커피어 발효유 개발 : 기호성 향상, 유통기한 산정, 품질관리, 대량생산기술, 포장

가. 기호성 향상

○ 커피어 발효유 제조시 기호성과 관련한 난점은 아래와 같음

<커피어 발효유의 기호성을 저하시키는 요인>
1. 50종 이상 미생물의 복합 발효 - 빠른 pH 저하로 인한 자극적인 풍미 발생
2. 강력한 효모 발효로 인한 막걸리취 발생
3. 유단백응고로 인한 유청분리 및 불균질한 질감 : 식감 저하

○ 이에 대해 본 연구팀은 아래와 같은 전략을 통해 기호성을 향상시키기로 함

<커피어 발효유 기호성 개선 전략>

문제점	기호성 개선 전략
빠른 pH 저하로 인한 자극적인 풍미 발생	발효조건 최적화
강력한 효모 발효로 인한 막걸리취 발생	커피어 이중발효 공법 활용
유단백응고로 인한 불균질한 식감 (유청분리)	안정제 사용

① 발효조건 최적화를 통한 pH 최적화 및 자극적 풍미 발생 억제

- 케피어 발효유 제조시 50종이상의 미생물의 동시 발효가 이루어짐에 따라 pH가 빠르게 저하되는데, 이는 시큼한 냄새를 내며 소비자에게 다소 자극적인 풍미를 나타냄
- pH의 급격한 저하를 막기위해 여러 조합의 발효조건에 변화를 주어 특유의 풍미는 보유하되 거부감을 주지않는 정도의 최적 발효조건의 확립이 필요

발효조건	그레인함량(%)	온도(°C)	발효시간(hr)	pH
발효조건1	7%	27°C	24hr	4.2
발효조건2	5%	27°C	24hr	4.5
발효조건3	3%	27°C	24hr	4.8
발효조건4	7%	27°C	30hr	3.7
발효조건5	5%	27°C	30hr	3.9
발효조건6	3%	25°C	30hr	4.3
발효조건7	7%	25°C	24hr	4.2
발효조건8	5%	25°C	24hr	4.8
발효조건9	3%	25°C	24hr	5.3

- 상기의 다양한 발효조건을 적용해본 결과, pH가 4.5이하로 내려가지는 않는 경우가 가장 거부감이 적으며 특유의 풍미를 유지하는 것을 볼 수 있었음
- 다소 낮은 케피어 그레인을 함유하거나 낮은 온도로 발효, 혹은 발효시간이 짧은 경우엔 충분한 발효가 일어나지않아서 특유의 풍미를 보유하지 않음을 알 수 있었으며, 이는 케피어 발효유로서 품질상 적절하지 않다고 판단되었음
- 반면 그레인함량이 많거나 더 높은온도, 더 긴시간 발효한 경우 특유의 향취가 강하게나 풍미 판단자에게 다소 불쾌감을 나타내는 정도의 향을 나타냈음
- 결론적으로 그레인의 함량은 5%, 온도는 27°C, 발효시간은 24시간의 발효조건일 때를 가장 최적화된 발효조건으로 확립할 수 있었음

② 케피어 이중 발효 공법을 활용한 효모 후산 발효 저감화

○ 국내외 문헌조사를 통해 다양한 케피어 발효유 제조 공법을 확인하고, 제품의 기호성과 품질을 개선할 수 있는 제조 공법 개발

4 Kefir: A Fermented Milk Product

Edward R. Farnworth and Isabelle Mainville

CONTENTS

- 4.1 Introduction 78
- 4.2 Kefir Grains 78
 - 4.2.1 The Microorganisms in Kefir Grains and Kefir 78
 - 4.2.2 Kefiran 83
 - 4.2.3 Electron Microscopy of Kefir Grains 84
- 4.3 Commercial Kefir Production 86
 - 4.3.1 Size of Production 86
 - 4.3.2 Methods of Production 86
- 4.4 Composition of Kefir 89
 - 4.4.1 Carbon Dioxide Content 90
 - 4.4.2 Fat Content 91
 - 4.4.3 Lactose/Lactic Acid Content 91
 - 4.4.4 Ethanol Content 91
 - 4.4.5 Amino Acids 92
 - 4.4.6 Volatile Components 92
- 4.5 The Taste of Kefir 93
- 4.6 Nutritional Value of Kefir 94
 - 4.6.1 Digestibility 94
 - 4.6.2 Protein Nutrition 94
 - 4.6.3 Lactose Metabolism 95
 - 4.6.4 Vitamin Content 96
 - 4.6.5 Kefir as an Infant Food 96
 - 4.6.6 Other Nutritional Uses 96
- 4.7 Physiological Effects of Kefir Consumption 97
 - 4.7.1 Kefir as a Probiotic 97
 - 4.7.2 Antitumor Effect in Animals 97
 - 4.7.3 Antibacterial, Antifungal, and Antiviral Properties of Kefir 99
 - 4.7.4 Cholesterol Metabolism 101
 - 4.7.5 Other Uses 102
- References 103

A. 전통적 케피어 발효유 제조

- 2~10% 농도의 Kefir grain을 우유에 접종하여 24시간 발효하여 제조하는 전통적인 케피어 발효유

B. 상업적 케피어 발효유 제조

- 동결건조된 유산균 및 lactose-fermenting yeast starter를 우유에 0.1-0.3% 첨가 후 37-42°C에서 8시간 발효 후 냉장하여 제조함

C. Water kefir

- 10%의 Kefir grain을 갈색 설탕이 첨가된 끓인 후 식힌 물에 접종하여 3-7일동안 배양해서 만든 케피어 음료

<참고 문헌 : Handbook of Fermented Functional Foods>

○ 문헌 조사를 통하여 케피어 발효에 활용될 수 있는 다양한 방법들을 시도하여, 최종적으로 케피어 발효 원액을 이용하여 한번 더 발효하는 “케피어 이중발효공법”으로 생산한 케피어 발효유의 풍미, pH, 유산균 및 효모 수치 등을 기존 케피어 발효유와 비교하여 평가하고 기호성 개선하면서도 고품질을 유지할 수 있는 최적화 조건을 선정하였음

<제조 공법에 따른 케피어 발효유 제품 품질 비교>

제조 공법	기존의 케피어 발효유	이중발효 공법으로 제조한 케피어 발효유
스타터 종류	케피어 그레인	케피어 발효 원액
pH	4.0-4.3	4.3-4.6
유산균수(cfu/ml)	10 log	9 log
효모수(cfu/ml)	7 log	5 log
초산균수(cfu/ml)	8 log	7 log

○ 대표 제조 공법 : 케피어 이중 발효 공법

- pH 저하 및 강력한 효모 발효로 인한 막걸리취 등의 기호성 문제를 해결하면서 제품의 기능성을 보존할 수 있는 본 연구의 대표 제조 공법으로 선정

③ 안정제 사용을 통한 식감 향상

○ 안정제 후보군 선정 : 한천, 젤라틴, 펙틴 등

- ◆ 안정제란 겔화제로서 식품에 대한 점착성을 증가시키고, 유화안정성을 증가시키며, 자연 식품과 가공식품의 안정성을 개선시켜 주는 물질
- ◆ 물과 기름, 기포, 콜로이드의 분산과 같이 상태가 불안정한 화합물에 첨가해 상태를 안정시키는 물질
- ◆ 가열이나 보존 중의 변화에 관여해 신선도를 유지하고 형태를 보존하는데 도움을 주며 식품의 식감이나 촉감을 개선

<식품 안정제 종류 및 특징>

한천	<p>해조류인 우뭇가사리 홍조류를 끓여 추출, 건조한 것. 물에 충분히 담가 물을 흡수 시킨 후 끓는 물에 용해시켜 사용. 물양의 1-1.5%정도 사용하면 젤라틴과 같은 효과를 얻을 수 있음.</p>
젤라틴	<p>동물의 껍질이나 연골속의 콜라겐을 정제한 것. 물에 담가 흡수 팽윤시킨 후 용해하여 사용. 최대 흡수량은 보통 젤라틴 중량의 10배 정도임.</p>
펙틴	<p>과일과 식물의 조직 속에 존재하는 다당류로 흡습성이 강함. 물에서 친수성 교질 용액을 형성하며 외관상의 점도는 매우 큼. 8% 이상의 펙틴을 사용해야 젤리를 형성함.</p>
C.M.C	<p>냉수에서 쉽게 팽윤되어 진한 용액이 됨. 산에 대한 저항성이 약한 C.M.C는 셀룰로오스로부터 만든 제품.</p>
알긴산과 알긴	<p>알긴산은 찬물에 녹지 않으며, 뜨거운 물에 약간 녹는다. 알긴은 뜨거운 물에도 녹으며 1%의 농도로 단단한 교질이 됨.</p>
로커스트 빈검	<p>냉수에도 완전히 용해되지만 뜨겁게 해야 더 효과적. 산에 대한 저항성이 큼.</p>
트래거캔스검	<p>냉수에 용해되며 71℃로 가열하면 최대로 농후한 상태가 됨.</p>

○ 케피어 발효유의 유청분리로 인한 불균질한 식감을 개선하기 위한 최적의 안정제 선정을 위한 평가 실험 실시

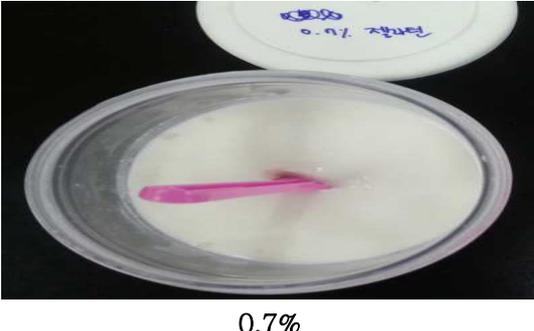
- Russian style kefir를 가열한 후 안정제를 첨가 및 교반
- 냉장 보관 후 보관기간별 유청분리 정도 및 식감을 비교

○ 최적 안정제 : 0.3% 젤라틴

- 냉장 보관 시 안정성이 가장 좋고 식감이 균질했던 젤라틴으로 선정

<안정제 평가 실험>

안정제 종류		
 <p><u>한천</u> -단단한 교질로 굳어버려 불편한 식감을 가짐</p>	 <p><u>젤라틴</u> -중간 정도의 교질을 가지며 불안정하여 불균질한 식감</p>	 <p><u>펙틴</u> -액상의 교질을 가졌으며 유화안정성이 높아 균질</p>

안정제 농도 평가 (젤라틴)	
 <p>0.3%</p>	 <p>0.5%</p>
 <p>0.7%</p>	 <p>1%</p>

◆ 다양한 안정제를 사용, 최적화 실험을 해 본 결과, 0.3% 젤라틴을 사용한 경우가 식감이 가장 좋으면서도 보관기간동안 케피어 발효유의 응고 없이 유청분리를 방지함을 확인하였음

나. 유통기한 산정

1) 풍미를 고려한 유통기한 산정

○ 케피어 발효유 최종 제품 생산 후 4°C에서 보관시, 보관 후 약 7일까지 풍미가 유지됨을 확인하였음

2) 외관을 고려한 유통기한 산정

○ 외관 측면에서 제조 후 보관 7일부터 pH 저하에 따른 유청분리가 일어나는 것을 확인하였음

○ 따라서 제품의 유통기한은 4°C 보관 기준 7일로 산정하였음



생산당일

5일 경과

7일 경과
[유청분리 발생]

8일 경과

10일 경과

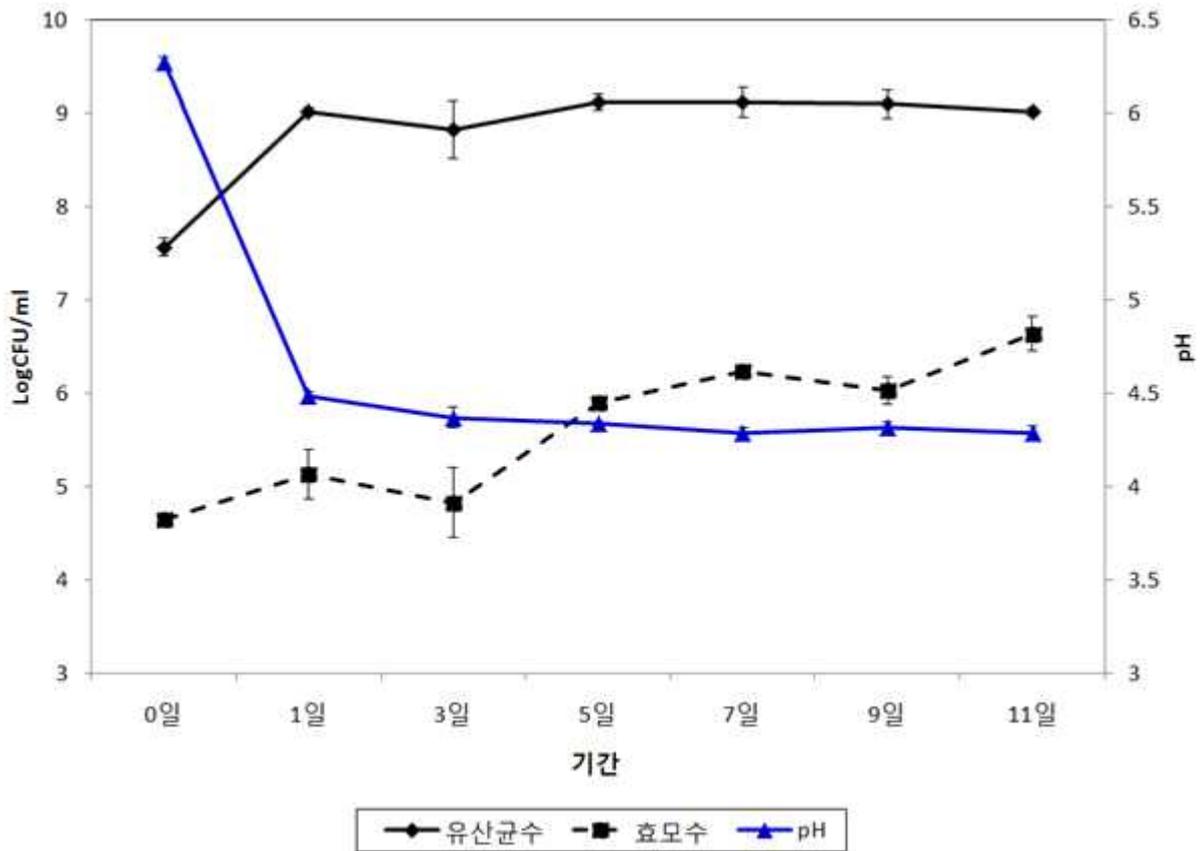
<보관 기간 중 제품의 외관 변화>

3) 미생물, pH를 고려한 유통기한 산정

○ 4°C 보관 기간 중 제품의 미생물, pH의 변화를 반복 실험을 통해 측정한 결과, 유산균수는 제품 완성 (1일부터) 이후 보관 11일까지 ml당 10^9 CFU 이상 유지됨을 확인하였음

○ 효모수는 제품 완성 이후 ml당 1.6×10^5 CFU 에서 점차 증가하여 보관 11일에는 최종적으로 ml당 4.7×10^6 CFU가 되었음

○ pH는 생산 이후 pH 4.49에서부터 조금씩 떨어져 보관 11일에는 pH 4.28이 되었다.



<보관기간 중 유산균수, 효모수, pH의 변화>

4) 최종 유통기한 산정

- 제품의 외관 및 미생물학적 성상을 고려했을 때, 10일 이후까지도 섭취에 문제는 없는 것으로 판단되나, 풍미를 고려할 때 가장 맛있는 케피어 발효유 상태가 유지되는 기간은 제품생산 이후 7일까지임을 확인함
- 따라서, 4°C 보관 기준시 7일까지를 유통기한으로 산정함

다. 케피어 구성 균총 동정/정량 및 케피어 기능성과의 연관성

○ 본사가 기보유하고 있는 품질관리 기술 및 새로 개발한 지표미생물 정량검출 기술을 활용함

○ 케피어 구성 균총 동정 및 정량 (품질관리)

<케피어 발효유 품질 관리를 위한 케피어 발효유 내 미생물 그룹 정량 분석>		
분석 프로토콜		
1) 케피어 발효유로부터 Genomic DNA 추출		
<ul style="list-style-type: none"> Genomic DNA의 추출에는 Nuclisens EasyMAG을 사용하였다. 케피어 발효유 100ul를 취하여 900ul의 lysis buffer를 첨가한 후 상온에서 10분간 반응시킨 다음 50ul의 magnetic silica를 첨가하여 충분히 피펫팅하여 풀어준 후 Nuclisens EasyMAG 장비에 loading하여 Genomic DNA를 추출하였다. 		
2) 케피어 발효유에 존재하는 미생물 분석을 위한 quantitative real-time PCR		
<ul style="list-style-type: none"> Real-time qPCR에는 아래와 같은 프라이머 서열을 사용하였다. 		
표적그룹	프라이머	서열 (5'-3')
Lactic acid bacteria	WLAB1 WLAB2	TCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGA TCGAATTAACCACATGCTCCA
Total Yeasts	YEASTF YEASTR	GAGTCGAGTTGTTTGGGAATGC TCTCTTTCCAAAGTTCTTTTCATCTTT
Acetic acid bacteria	AQ1F AQ2R	TCAAGTCCTCATGGCCCTTATG CGCCATTGTAGCACGTGTGTA
Lactobacillus/Lactococcus group	LabF362 LabR677	AGCAGTAGGGAATCTTCCA CACCGCTACACATGGAG
Enterococcus group	Enc-F-rt Enc-FR-rt	CCCTTATTGTTAGTTGCCATCATT ACTCGTTGTACTTCCCATTGT
Streptococcus group	Str1 Str2	GTACAGTTGCTTCAGGACGTATC ACGTTTCGATTTTCATCACGTTG
Bifidobacterium group	g-Bifid-F g-Bifid-R	CTCCTGGAAACGGGTGG GGTGTTCTTCCCGATATCTACA
Candida group	CTSF CTSR	TCCGATCGATGAAGAACGCAGC TCTTTTCCTCCGCTTATTGATATGC
Saccharomyces group	SC1 SC2	GAAAACTCCACAGTGTGTTG GCTTAAGTGCGCGGTCTTG
<ul style="list-style-type: none"> 이러 아래 표와 같은 PCR 반응용액을 제조하였다. 반응액을 7500 real-time PCR system (Applied Biosystems)을 이용하여 95°C에서 30초간 반응시킨 후, 95°C에서 5초, 60°C에서 34 		

초로 구성된 반응사이클을 40회 반복하며 형광값을 측정하여 결과를 얻었다. 증폭산물의 특이성 검정을 위하여 해리곡선 분석을 추가적으로 실시하였다.

재료	용량
SYBR Green Premix (Takara)	10 μ L
Forward primer	0.4 μ L
Reverse primer	0.4 μ L
Rox dye	0.4 μ L
멸균증류수	6.8 μ L
Genomic DNA	2 μ L
총 합	20 μ L

분석 결과

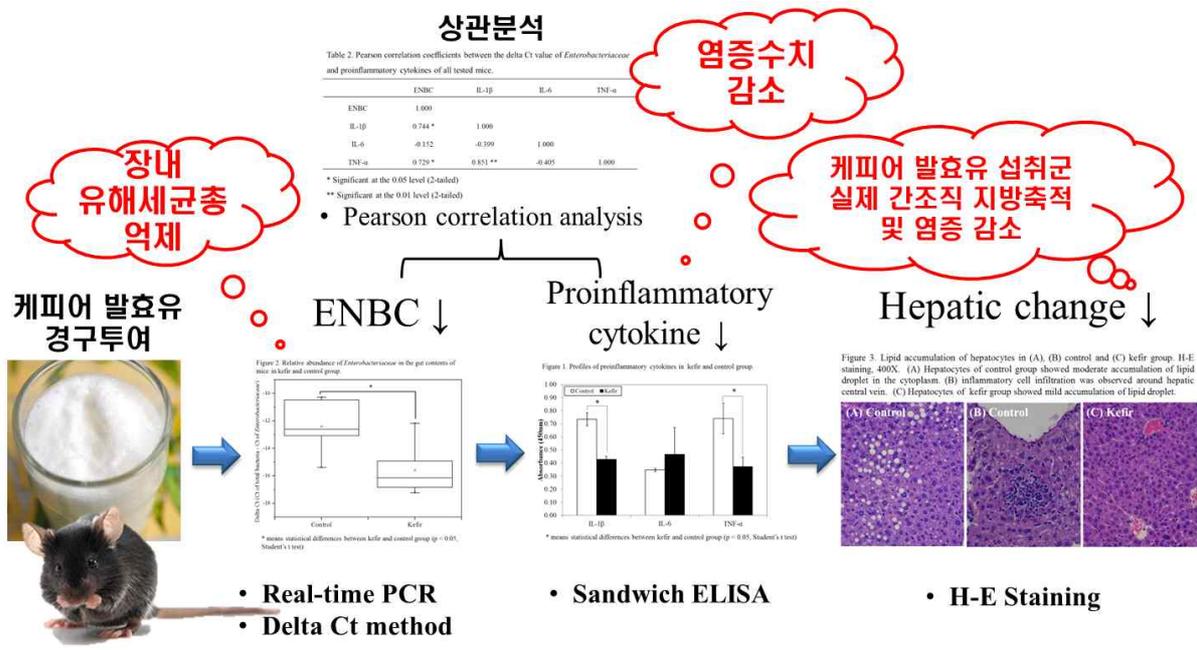
- 본사에서 제조한 케피어 발효유 1ml에 존재하는 미생물을 정량한 결과가 아래 표에 제시되어 있다.

대분류	그룹	케피어 발효유 1mL당 Log군수 *
주요 미생물 그룹	Lactic acid bacteria	9.70 \pm 0.13 A
	Acetic acid bacteria	7.45 \pm 0.61 A
	Total yeast	5.71 \pm 0.42 B
유산균	Lactobacillus/Lactococcus	9.13 \pm 0.61 A
	Streptococcus	7.71 \pm 1.39 B
	Enterococcus	7.31 \pm 0.24 B
	Bifidobacterium	검출되지 않음
효모	Candida	5.36 \pm 0.17 B
	Saccharomyces	4.71 \pm 1.38 B

* 동일 열 내의 다른 알파벳은 두 값 사이의 통계학적 유의차가 있음을 의미함 (P < 0.05)

❖ 케피어의 대사성 지방간 예방 기능성과의 연관성

- 상기 분석에서 케피어 내에 존재한다고 밝혀진 Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Enterococcus 등의 유산균들은 대사성 지방간병의 예방에 연관이 있음
- 케피어의 섭취로 인해 장관 내에서 유산균총의 비율이 증가하게 되면 유산균들이 생산하는 다양한 유기산들로 인하여 장관 환경의 산성화가 유도됨
- 산성화된 장관환경에서는 그람 음성의 기회주의 감염균(opportunistic pathogens)들이 감소하게 되어, 혈중으로 유입되는 endotoxin(lipopolysaccharide)의 농도를 감소시킬 수 있으며, 이로 인해 염증성 cytokines의 합성과 분비가 저해됨 (염증성 cytokines - IL-6, TNF- α , IL-1b)
- 위와 같은 사실이 본 팀의 연구결과에 의해서도 밝혀진 바 있음



〈본 팀이 규명한 대사성 지방간병 예방 메커니즘〉

- 또한, 최근 연구에 따르면 Saccharomyces 등의 효모는 비만 등 대사성 증후군의 발증을 예방 및 치료할 수 있는 것으로 밝혀짐. Saccharomyces 효모는 케피어에서 가장 풍부한 효모 중 하나임.
- 이와 같이, 케피어에 존재하는 다양한 종류, 그리고 고농도의 유산균 및 효모의 존재로 인해 장관환경이 개선되고, 이로 인하여 체내 면역반응이 조절될 뿐만 아니라 직접적인 영양소의 소화 및 흡수, 그리고 에너지 대사와 관련된 유전자 조절에 의해 결론적으로 대사성 지방간병이 치료 및 예방되는데 기여하는 것을 알 수 있음

- 지표미생물 정량검출 기술(케피어 인증): 본사가 기보유하고 있는 케피어 지표미생물 *L. kefir* 검출기술 활용

<케피어 지표미생물 *Lactobacillus kefir* 검출 >

분석 프로토콜

1) 케피어 발효유로부터 Genomic DNA 추출

- ◆ Genomic DNA의 추출에는 Nuclisens EasyMAG을 사용하였다. 케피어 발효유 100ul를 취하여 900ul의 lysis buffer를 첨가한 후 상온에서 10분간 반응시킨 다음 50ul의 magnetic silica를 첨가하여 충분히 피펫팅하여 풀어준 후 Nuclisens EasyMAG 장비에 loading하여 Genomic DNA를 추출하였다.

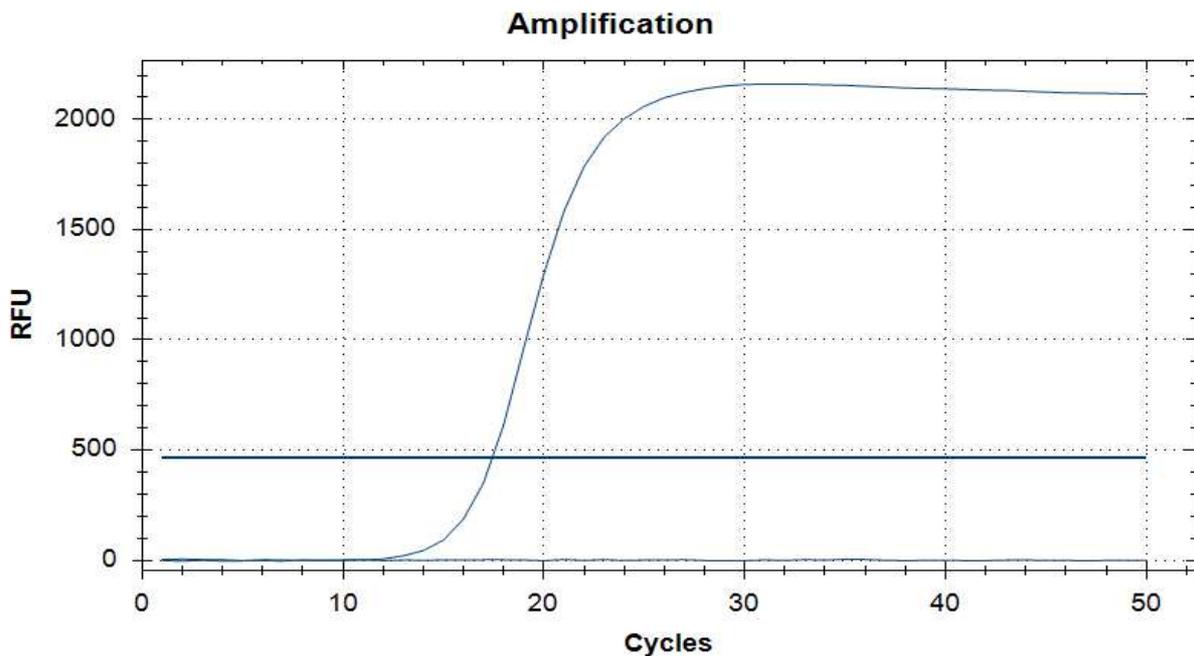
2) 케피어 발효유에 존재하는 미생물 분석을 위한 quantitative real-time PCR

- ◆ Real-time qPCR에는 아래와 같은 프라이머 서열을 사용하였다.

Primer/Probe 명칭	서열	농도
LK_508F (forward primer)	5'- GGGAGATGCCCATGTTGGT -3'	300 nM
LK_508R (reverse primer)	5'- AAGCTTTCGAAGTGCCTGTGA -3'	900 nM
LK_508P (probe)	5'-FAM- TGCAAGCACGACTGAT -3'-TAMRA	250 nM

분석 결과

- ◆ 본사에서 제조한 케피어 발효유에서 *Lb. kefir*를 검출한 결과가 아래 그림에 제시되어 있음



- ◆ 위 그림에서 볼 수 있듯, 본사에서 제조한 케피어 발효유에서 *Lb. kefir*가 검출되어, Codex식품 규격에 적합한 케피어 발효유 제품임을 인증할 수 있었음

라. 대량생산

커피어 발효유 대량생산 기술

1. 서론 - 개발의 배경 및 목적

- 커피어는 50종 이상의 유산균, 초산균, 효모가 공생계를 형성하고 있는 천연 복합 프로바이오틱 발효유제품이다. 커피어를 정기적으로 섭취할 경우 정장작용, 항비만작용, 항염증작용, 항미생물작용 등 다양한 건강 유익효과를 얻을 수 있다고 알려져 있으며, 커피어가 처음으로 유래된 구 소련의 코카서스 지방에서는 장수식품, 당뇨병의 치료 보조식품으로서 이용되어 왔다.
- 커피어의 상업적인 이용을 위해서는 일정한 품질의 커피어를 대량으로 생산할 필요가 있지만, 커피어 미생물들의 복합 발효로 인해 생성되는 다량의 유기산으로 인한 유청분리 현상, 강한 산도에 따른 풍미 저하 및 유통기한 감소, 커피어 그레인을 사용하는 특수한 발효방식으로 인한 스타터의 불균질 분포 및 품질 불균질화 등으로 인해서 실제 산업 현장에서의 대량생산이 어려움을 겪고 있다.
- 이에 본 개발에서는 적은 양의 스타터만을 이용해서도 품질이 일정하고 유청분리가 오랫동안 일어나지 않으며 우수한 풍미를 지닌 커피어를 높은 생산효율로 생산해낼 수 있는 대량생산 기술을 개발하고자 한다.

2. 본론 - 기술 설명

(1) 종균발효 : 종균액(커피어 주발효 스타터) 제조 (Mother culture)

- 커피어 그레인 50g을 멸균 증류수를 이용하여 무균적으로 세척해준 후 멸균우유 1L에 접종하여 고르게 분포시킨다. 25°C에서 24시간동안 정치 배양한다. 발효물을 구멍의 크기가 2mm 이하인 멸균 체를 사용하여 여과하여 커피어 그레인만을 회수하고, 여과된 커피어 발효액을 3분간 천천히 교반하여준다. 이 발효액을 종균액 (커피어 주발효 스타터)으로 사용한다.

(2) 주발효 (Main fermentation)

(2)-1. 우유를 사용하는 경우

- 우유 20L를 95°C까지 중탕가열한다. 이후 식용 가루 젤라틴을 60g 첨가한다. 온도를 유지하며 5분 이상 교반하여 젤라틴을 모두 용해시켜준다. 이후 35-37°C까지 냉각시킨 후 (1)에서 만들어진 커피어 주발효 스타터 1L를 첨가해주고 1분간 교반해준다. 25°C에서 18시간동안 정치배양한다.

(2)-2. 분유를 사용하는 경우

- 물 20L를 100°C까지 가열한다. 이후 95°C까지 냉각하여 전지분유 2600g을 첨가 한 후 5분간 교반을 실시하여 분유를 완전히 용해시킨다. 이후 식용 가루 젤라틴을 60g 첨가한다. 온도를 유지하며 5분 이상 교반하여 젤라틴을 모두 용해시켜준다. 이후 35-37°C까지 냉각시킨 후 (1)에서 만들어진 케피어 주발효 스타터 1L를 첨가해주고 1분간 교반해준다. 25°에서 18시간동안 정치배양한다.

(3) 숙성 (Maturation) 및 교반

- 주배양이 끝난 발효유를 4°C에서 30분 동안 숙성시켜줌과 동시에 교반하여 질감을 향상시킨다.

(4) 분주 및 포장을 통한 최종 제품 완성

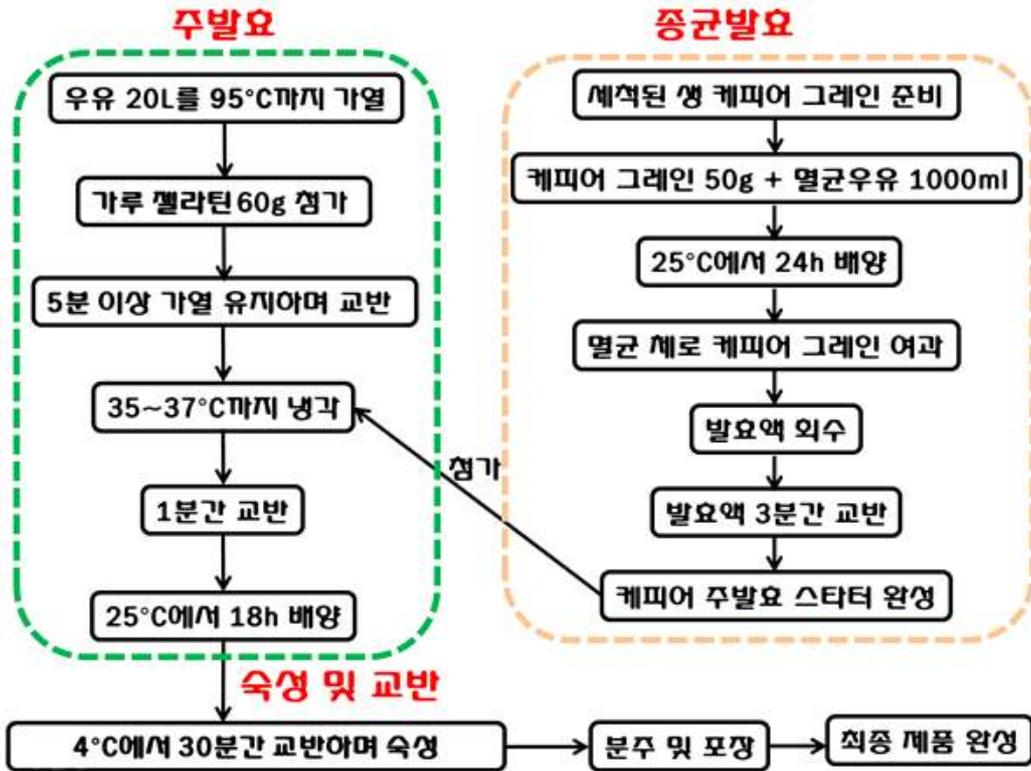
- 분주기를 사용하여 포장용기에 일정량씩 분주 후 최종 제품을 완성한다.

3. 최종 제품 및 생산효율

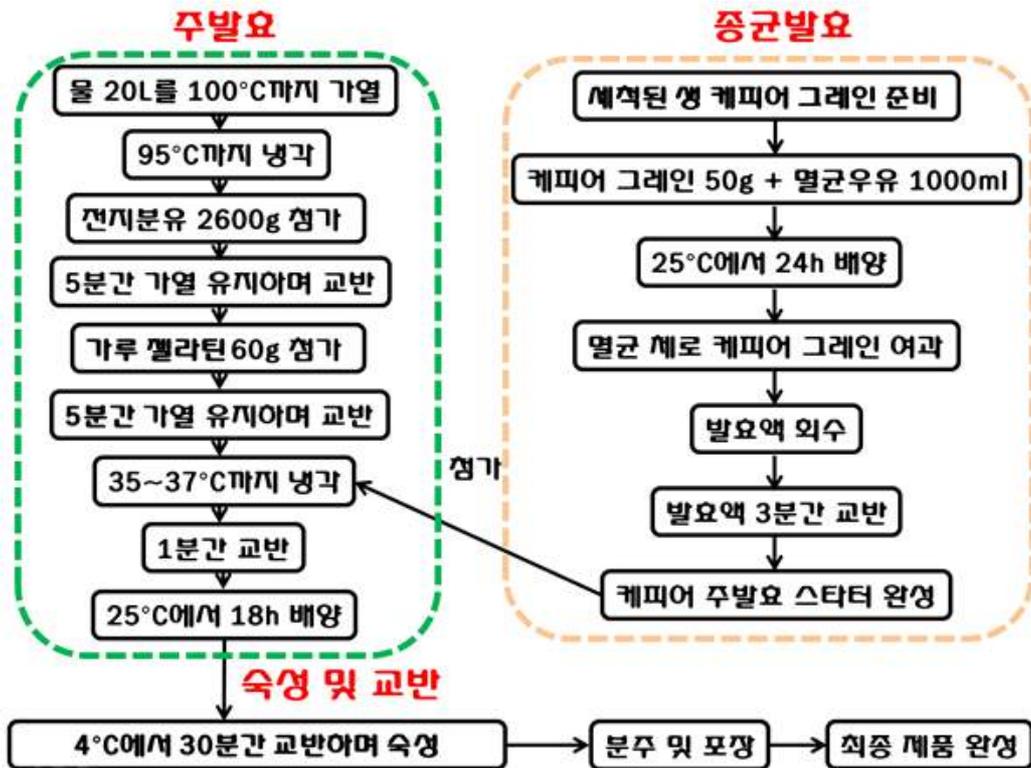
- 모배양 스타터 50g으로부터 최종적으로 배양물 20L를 얻을 수 있었다. 발효 스타터로부터 400배의 발효 산물을 생산할 수 있었다.
- 전 생산 과정을 거쳐 만들어진 산물은 유청분리가 되지 않은 균질한 품질의 발효유이다. 유백색의 액상 제품으로, 풍미는 새콤한 맛과 함께 탄산의 청량감 등 케피어 고유의 풍미가 잘 느껴졌다. 점성이 있어 스푼을 사용하여 떠먹을 수 있다.



<커피어 발효유 제품 생산 공정도>



<커피어 대량생산 공정도 - 우유를 사용하는 경우>



<커피어 대량생산 공정도 - 분유를 사용하는 경우>

마. 포장

① 용기의 형태

- 포장용기가 제품의 발효에 영향을 미칠 수 있다는 점에 착안하여, 우선적으로 포장용기의 재질 및 형태에 따른 발효 특징을 분석해 보았음
- 실험에 2가지 형태, 2가지 재질의 발효용기를 사용하였음



형태	재질	유청분리 현상
Wide-base and Short	Glass	유청분리 현상이 거의 발생하지 않는 모습을 확인하였다. 풍미의 측면에서는 효모의 맛이 강하게 느껴졌다.
Narrow-base and Tall	Glass	유청분리 현상이 두드러지게 나타났다. 풍미의 측면에서는 신맛이 강하게 나타났다.
Wide-base and Short	plastic	유리와 마찬가지로, 유청분리 현상이 거의 발생하지 않는 모습을 확인하였다. 풍미의 측면에서는 효모의 맛이 강하게 느껴졌다.
Narrow-base and Tall	plastic	유리와 마찬가지로, 유청분리 현상이 두드러지게 나타났다. 풍미의 측면에서는 신맛이 강하게 나타났다.

- 결과를 고찰해 보면 발효 용기의 재질보다는 발효 용기의 형태가 유청분리에 더욱 큰 영향을 미치는 것으로 사료됨
- 표면적이 넓을수록 효모 발효가 강하게 발생할 수 있어 보관기간동안의 지속적인 산도 상승이 나타날 수 있음

○ 실제로, 넓은 용기를 사용한 경우, 제품의 신맛이 강하게 나타났음

○ 따라서, 용기 고려시 폭이 좁고 길다란 형태의 용기를 사용하는 것이 바람직하다고 사료됨

② 용기의 재질 및 최종 용기 선정

○ 연구 초기에는 케피어 발효유 포장을 위해서 요거트 포장용 전문 용기를 판매하는 오성프라스틱을 선정하였음



○ 상기의 회사 제품은 시판되는 여러 요거트의 용기로서 판매되고 있는 경력이있으며, 캡과 병구가 밀착되어 습기에 민감한 제품에 효과적으로 사용할 수 있다는 점에서 케피어 발효유에 적합하다고 판단하여 선택하게 되었음

○ 그러나 최근 고품질의 유니크한 디자인의 제품들이 각광받고 있어, 케피어 발효유 특유의 깔끔함과 신선함을 잘 표현하기 위해 투명한 용기 등 다른 종류의 용기를 후보제품으로 더 선정함

○ 신선하고 풍미가 오래 보존되어 소비자에게 고품질 제품을 제공하는데 효과적인 유리용기를 차선으로 선택해 제품을 비교해봄

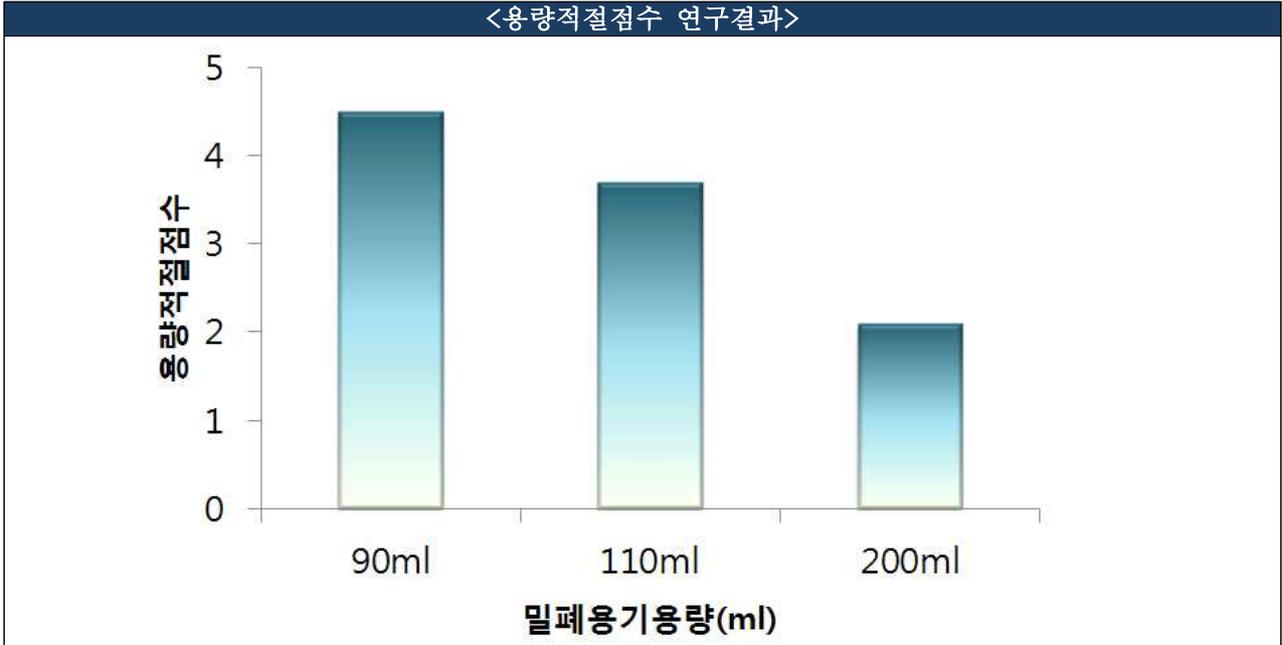
- 유리용기는 ‘미르코리아’라는 유리밀폐용기 전문 인터넷 사이트를 이용하였으며, 1병당 단가는 플라스틱 제품과 유사했음
- 평가표에 근거하여 두 가지 재질의 외관적 호감도, 제품 차별성, 밀폐보관정도에 대해 스코어링을 실시한 결과 유리용기를 선택하여 이를 포장재재로 쓰기로 결정함



- 해당 ‘미르코리아’에 있는 용기 중 케피어 발효유를 담기에 적당한 용량의 용기를 선정하기 위해 3가지 용량을 선택해서 미리 시제품을 만들어봄

용량	90ml	110ml	200ml
제품 사진			
용량 만족도	6~8ts 정도로 후식으로 적절하다는 의견이 다수	10ts 이상으로, 간편하게 디저트로 먹기에는 무리가 있다는 의견	한번에 모두 섭취하기에 다소 용량이 많아 남는 경우가 많음
용기1개당 가격	602원	641원	762원

- 상기 사진의 시제품을 활용해 시제품 적절성 평가표를 만들어 기호성 점수를 판단함



- 위 표에서 볼 수 있듯, 밀폐용기 90ml가 가장 기호성이 있는 것으로 판단되었고, 그 가격도 ml당 가장 저렴한 것을 확인함
- 따라서, 미르코리아에서 90ml 크기의 용기를 선택해 제품을 포장하기로 결정함
- 최종 제품 용기의 모습



<플레인 케피어 발효유 제품 (90ml)>

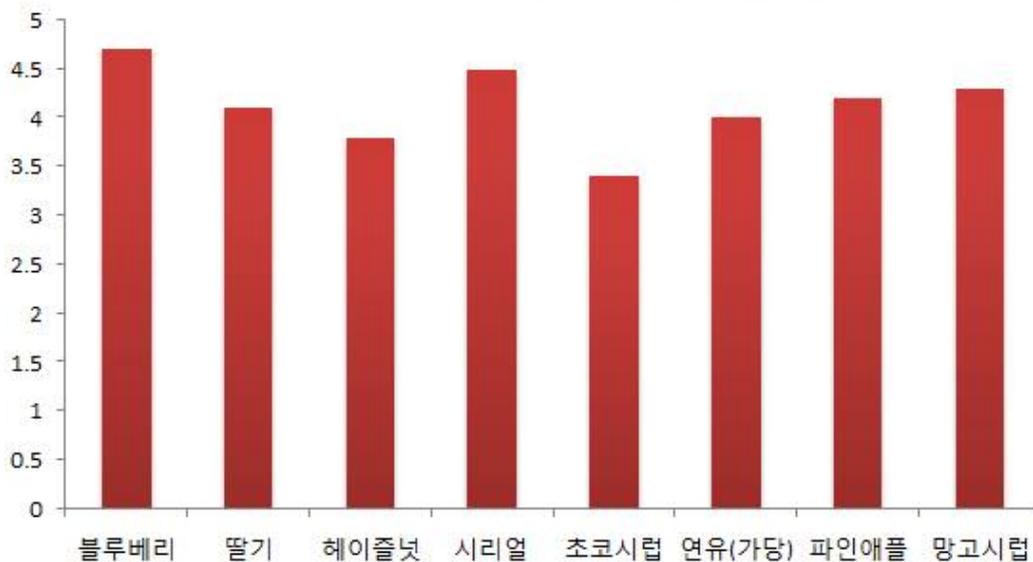
(2) 블루베리 커피 발효유 개발

- 커피 발효유에 가미/가당을 통한 기호성 향상 연구 초기에, 다양한 가미/가당을 위한 예비 실험이 수행되었음



- 블루베리, 초코시럽, 호두시럽, 시리얼, 가당 등을 통해서 다양한 커피 가미 제품을 만들고 그 맛을 스코어링 해 보았음 (대상자: 28명)

기호성 scoring 결과 (5점 만점)



- 스코어링 결과, 블루베리 시럽을 첨가한 커피 발효유가 가장 기호성 스코어가 높게 나타났다
- 따라서, 커피 발효유 가미/가당 제품에는 블루베리 시럽 또는 잼을 첨가하기로 결정함

○ 블루베리 케피어 발효유 개발을 위해서 블루베리 잼 및 블루베리 시럽 등 다양한 블루베리 첨가제품을 이용하였음

<블루베리 잼>



복음자리 블루베리잼



오뚜기 블루베리잼



본마망 블루베리잼



올가 블루베리잼

<블루베리 시럽>



스머커즈
블루베리시럽



대두식품
블루베리시럽



엘리스 블루베리시럽



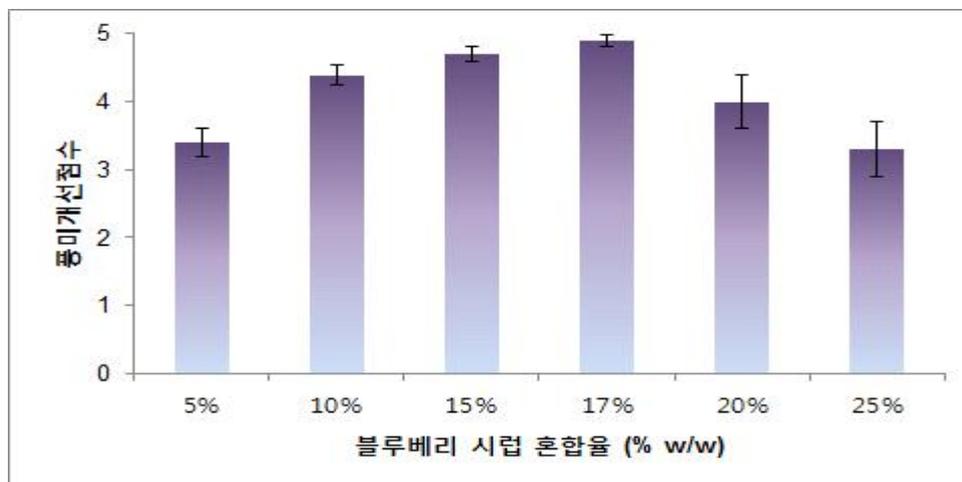
모닝 블루베리시럽

<다양한 블루베리잼 및 시럽 평가표>

구분	제품	평가
잼	복음자리 블루베리잼	균질한 혼합이 어려움
	오뚜기 블루베리잼	균질한 혼합이 어려움
	본마망 블루베리잼	균질한 혼합이 어려움
	올가 블루베리잼	균질한 혼합이 어려움
시럽	스머커즈 블루베리시럽	혼합이 잘되며 풍미 개선율이 높음
	대두식품 블루베리 시럽	혼합이 잘됨
	엘리스 블루베리 시럽	혼합이 잘 되나 단가가 비쌘
	모닝 블루베리 시럽	혼합이 잘 되나 단가가 비쌘

- 위 표에서 볼 수 있듯, 블루베리 잼보다는 블루베리 시럽이 커피에 발효유와 혼합이 잘 되며 풍미 개선율이 높음을 확인함
- 따라서, 블루베리 시럽을 이용하여 블루베리 커피어를 만들기로 결정함
- 블루베리 시럽을 이용하여 농도 최적화 연구를 진행하였음
- 상기 평가표에 근거하여 혼합율, 풍미 개선율이 가장 높은 스머커즈 사의 블루베리 시럽을 활용함

<농도 최적화 연구 결과>



- 상기 평가표에서 나타나듯, 케피어 발효유와 블루베리 시럽을 17%의 비율로 혼합했을 때 풍미가 가장 많이 개선되는 것으로 나타났음
- 혼합 %가 낮을 때에는 풍미의 개선이 그다지 많이 이루어지지 않았으며, 혼합 %가 너무 높은 경우에는 단맛이 너무 강해져 케피어 발효유 본연의 맛을 느낄 수가 없었음
- 즉, 케피어 발효유의 풍미와 질감을 잘 살리면서도 기호성을 개선하기 위해서는 케피어 발효유와 블루베리 시럽을 17%로 혼합하는 것이 좋다는 결론을 얻음
- 최종 제품의 모습



<블루베리 케피어 발효유 제품 (90ml) >



<블루베리 케피어 제품 라벨>

(3) 케피어 그레인 동결건조 제품 개발

가. 동결건조기를 이용한 그레인 동결건조

- 케피어 그레인 동결건조 제품 개발을 위해서 동결건조 프로토콜을 확립하였음
- 본 연구팀이 사용한 동결건조기 제품은 Ilshin Biobase社의 FD series로 케피어 그레인의 동결건조를 위하여 아래와 같은 프로토콜을 확립하였음

1. 동결건조기를 켜다.
2. 진공펌프를 작동하기 전에 냉동기를 작동시킨다.
3. 냉동 온도가 -40°C 이하가 될 때까지 기다린다.
4. 진공펌프를 작동시키기 전에 진공펌프의 오일 상태와 양을 점검한다. 오일의 상태가 좋지 않으면 오일을 교환한다.
5. 이후 챔버를 오픈하여 동결건조할 시료(케피어 그레인)를 넣고 진공펌프를 작동시킨다.
6. 이후 압력 50 mTorr 이하를 유지하며 동결건조를 실시한다
7. 동결건조 시간은 시료 양에 따라 차이가 있으며 최소 48h에서 최대 96h까지 실시할 수 있다.
8. 동결건조가 끝나면 pump작동을 종료시키고 purge를 통해 기내 압력을 상승시켜준다.
9. 이후 시료를 꺼내고 defreeze버튼을 눌러 기내 포집된 수분을 배출시킨다.
10. 기계 종료



<동결건조기를 이용한 동결건조 조건>

<커피어 그레인 동결건조 제품 생산 프로토콜>



<시료 선냉각 : -80°C, 24h>



<선냉각된 시료를 꺼냄
:선냉각시 시료의 양은 10g 내외로 함>



<온도 -40°C 이하, 압력 50 mTorr이하를 유지하며 동결건조를 실시: 48-96h>



<동결건조기에 시료 주입>



<동결건조 완료>



<포장>

나. 동결건조 그레인 제품 포장 및 최종 제품 완성

- 케피어 그레인 동결건조 제품을 포장함
- 본 연구팀이 사용한 포장기는 INTRISE 社의 AIRZERO임
- 포장기에 맞는 규격의 식품용 포장지를 사용하였음



<AIRZERO 구동 화면>



<AIRZERO 기계의 모습>



<전용 포장지>



<동결건조 그레인 1g과 식품용 실리카겔 1포을 넣고 포장한 최종 제품의 모습>

4. 웹사이트 판매망 구축 및 제품 출시

(1) 본사 홈페이지에 건강식품 콘텐츠 개선을 통한 판매망 구축

- 본 기업은 개발한 3종 제품을 홍보하고 판매망을 구축하기 위하여 본사 홈페이지에 건강식품 콘텐츠를 개설하였음

HOME · SITEMAP · CONTACT US

SensorGen Inc.

회사소개 식중독균별 제품소개 보유기술 기술자료 KU 식품건강연구소 코카서스 케피리

오리지널 코카서스 케피리 블루베리 코카서스 케피리 코카서스 케피리 동결건조 스타터

미생물 신속검출 기술의 선두주자

식품안전 서비스와 지역보건의 향상을 위해 항상 노력하는 센서젠이 되겠습니다.

특허현황
센서젠의 특허보유 현황입니다.

보유기술
센서젠의 보유기술 현황입니다.

식중독균별 제품소개

바이오센서검출 선택배지검출 기타자료

*식중독 세균 자료입니다. 2013-02-22

살모넬라 캠필로박터 제주니 황색포도상구균 장염비브리오

- 위 그림에서 볼 수 있듯 본 기업의 홈페이지인 <http://sensorgen.kr/> 로 접속하여 ‘코카서스 케피리’ 탭을 클릭하면 오리지널 코카서스 케피리, 블루베리 코카서스 케피리, 코카서스 케피리 동결건조 스타터 등 세가지 제품이 등록되어 있음

○ 구체적인 내용은 다음과 같음

홈 > 코카서스 케피리 > 오리지널 코카서스 케피리

| 오리지널 코카서스 케피리 CAUCASUS KEFIRI

“유산균이 짝 찬 발효유, 오리지널 코카서스 케피리”

- ㈜센서젠과 KU식품건강연구소가 공동으로 개발한 ‘코카서스 케피리 발효유’는 티벳버섯이라고 알려져 있는 케피어 그레인을 원료로 합니다.
- Lactobacillus kefirifaciens, Lactobacillus kefir, Lactobacillus parakefir 등의 유익한 프로바이오틱 유산균과 Kluyveromyces marxianus 등의 유당 발효 효모 및 초산균을 수억마리 이상 고농도로 함유하는 천연 복합 발효유입니다.



- 섭취된 코카서스 케피리는 장내세균총을 개선하여 여러분의 건강을 향상시킬 수 있는 기능성 식품입니다.
- 유당 분해 미생물이 풍부하기 때문에 유당의 함량이 낮아 유당불내증을 가진 분들도 안심하고 드실 수 있습니다.
- 코카서스 케피리에 있는 풍부한 단백질 및 다당류가 여러분의 면역기능과 체중조절에 도움을 줍니다.

- 변비와 설사가 있으신 분들도 안심하고 드실 수 있습니다.

프로바이오틱스

장내 건강에 유익한
프로바이오틱 유산균, 효모, 초산균을
수억마리 이상 함유함

정장작용

장내세균총 개선을 통해서
소화를 돕고 장내의 스트레스를 줄여
변비, 설사 등을 완화함

지방간 및 비만 억제

3주 이상 꾸준히 복용할 경우
지방간 및 비만 등의 대사성 질환을
억제하는 효과가 있어
다이어트식품으로도 안심맞춤입니다.

• 섭취방법

- 1 제품 그대로 시음하시면 풍부한 유기산, 고소하고 풍부한 단백질, 천연 탄산의 맛 등 천연 복합 발효유 고유의 풍미를 느끼실 수 있습니다.
- 2 샐러드나 요리의 드레싱 소스로 사용하셔도 됩니다.
- 3 과일 시럽이나 꿀 등을 첨가하여 드시면 아이들의 영양 간식으로도 인기 만점입니다.
- 4 고소함과 영양을 위하여 호두, 아몬드 등의 견과류를 넣어드시면 더욱 맛있습니다.
- 5 시리얼과 함께라면 한끼 식사대용으로 든든합니다.

☞ 홈 > 코카서스 케피리 > 블루베리 코카서스 케피리

| 블루베리 코카서스 케피리 CAUCASUS KEFIRI

“블루베리와 천연 복합 발효유의 콜라보, 블루베리 코카서스 케피리”

- ㈜센서젠과 KU식물건강연구소가 공동으로 개발한 '코카서스 케피리 발효유'는 티벳버섯이라고 알려져 있는 케피어 그레이인을 원료로 합니다.
- Lactobacillus kefiranofaciens, Lactobacillus kefir, Lactobacillus parakefir 등의 유익한 프로바이오틱 유산균과 Kluveromyces marxianus 등의 유당 발효 효모 및 초산균을 수억마리 이상 고농도로 함유하는 천연 복합 발효유입니다.



- 천연 복합 발효가 이루어진 100% 케피어 발효유에 블루베리의 풍부한 과즙을 추가하여 깊고 농후한 맛을 살렸습니다.
- 블루베리는 10대 슈퍼푸드 중 하나로 항산화효과와 더불어 피부미용 및 면역반응에도 좋은 과일입니다.

- 케피리 특유의 새콤한 풍미를 달콤한 블루베리와 조화시켜 어린이의 입맛에도 꼭맞는 영양간식이 될 수 있습니다.
- 온가족이 함께 즐길 수 있는 복합발효유입니다.

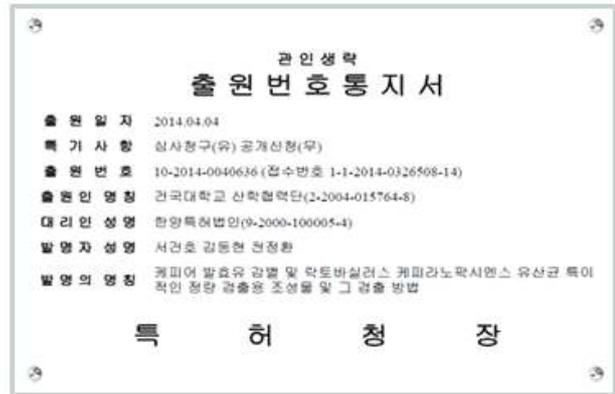
• 구매문의(전화상담)



● 본사 보유기술



코카서스 케피리 품질관리 기술



코카서스 케피리 핵심 균주 품질검사 기술 1



코카서스 케피리 핵심균주 품질검사 기술 2



포장기술 (발효유 포장용)

● 구매문의(전화상담)



| 코카서스 케피리 동결건조 스타터 CAUCASUS KEFIRI

**“천연 복합 발효유를 집에서 손쉽게 만들어 먹는
코카서스 케피리 동결건조 스타터”**

- ㈜센서젠과 KU식품건강연구소의 공동 연구로 생산한 코카서스 케피리 동결건조 스타터입니다.
- 코카서스 케피리 발효유 생산시 원료로 사용되는 스타터를 동결건조 기술을 사용하여 보관기간을 향상시키고 오염을 예방하여 여러분께서 편리하게 발효유를 만들어 드실 수 있도록 하였습니다.



코카서스 케피리 스타터



동결건조 스타터

• 섭취방법

- 본 스타터 제품 (한 포)을 신선한 우유 200ml에 넣고 상온에서 하루 동안 두시면 천연 복합 발효유 제품을 집에서 손쉽게 만들어 드실 수 있습니다.
- 별도의 장비가 필요 없이 집에서 따뜻한 곳에 (20~25° C) 두시는 것만으로도 충분합니다.
- 본 스타터를 매일 새로운 우유에서 배양해주면 영구적으로 사용이 가능합니다.



동결건조 스타터를 준비!



깨끗한 용기에 우유 200ml를 담고~



동결건조 스타터를 넣습니다 ^^



짜잔~ 이제 뚜껑을 닫고
하룻동안 배양해주면..



맛있는 코카서스 케피리 완성! ^^



• 구매문의(전화상담)

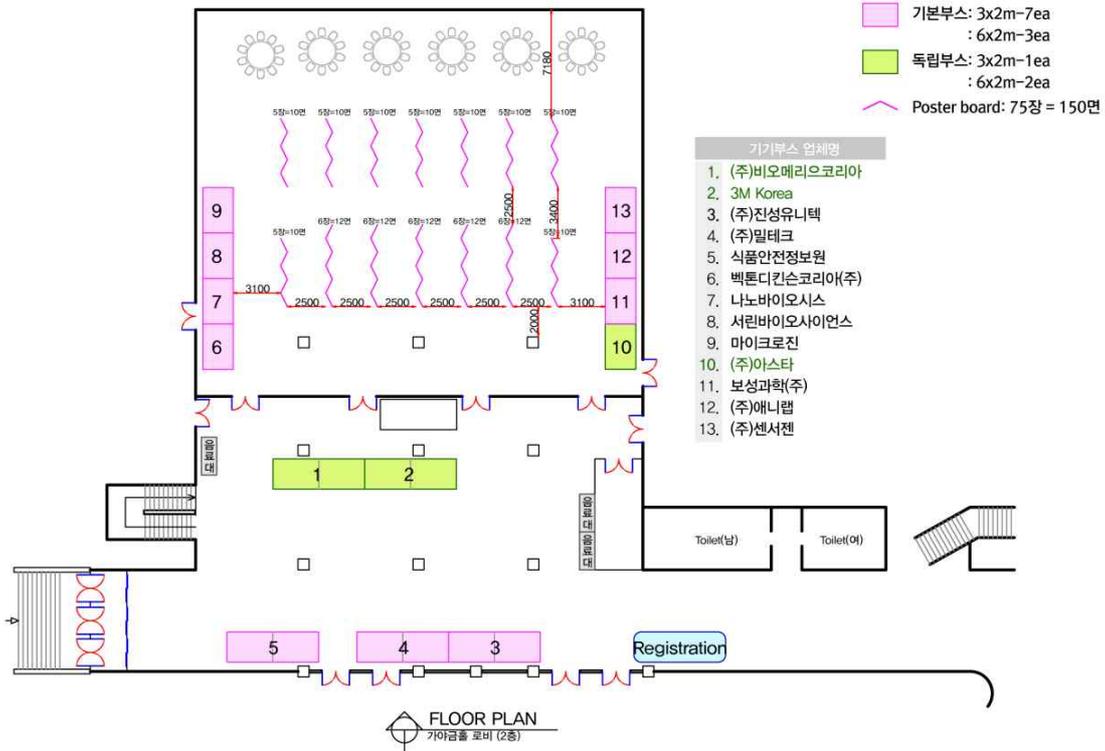
 SensorGen Inc.	
---	--

(2) 공개 시음회 통한 제품 홍보

○ 본사가 개발한 오리지널 커피어 발효유 및 블루베리 커피어 발효유 홍보를 위하여 아래와 같이 공개 시음회를 개최하였음

<공개 시음회 개요>

일시	2015년 10월 23일 (금)
장소	더케이서울호텔 (서울시 서초구 양재동)
홍보형태	한국식품위생안전성학회 기기부스 참여
시음대상자	약 150명
시음 대상 상품	오리지널 커피어 발효유 블루베리 커피어 발효유
기타	팸플렛 배부



- 홍보회를 통해서 오리지널 케피어 발효유와 블루베리 케피어 발효유를 홍보하였음
- 한국식품위생안전성학회의 전시업체로 참여하여 시음회를 개최하였음
- 팜플렛을 배부하고 3종 제품에 대한 자세한 설명을 함으로써 제품을 홍보하였음
- 제품에 대한 다양한 의견을 수렴하였음

○ 오리지널 케피어 발효유

- 제품의 맛이 기존의 발효유 제품과 비교하였을 때 특이성이 있다는 의견은 공통적이었으며, 연령대에 따라서 호불호가 다르게 나타났음
- 전반적으로 장-노년층의 경우 오리지널 케피어 발효유의 맛을 좋아했음
- 젊은 층에서는 효모의 발효취가 좋지 못하다는 의견이 존재했으나, 입에 넣었을 때의 맛이 의외로 괜찮다는 의견이 주를 이루었음

○ 블루베리 케피어 발효유

- 블루베리 케피어 발효유의 경우 청년층에서 큰 인기를 보였음
- 노년층의 경우 너무 달다는 의견이 많았음
- 외관상에서 보라색의 라벨과 블루베리 케피어의 연보라빛이 잘 어울린다는 의견이 있었음

○ 기타의견

- 병 제품을 마실 때 제품의 점도로 인해 잘 흘러나오지 않아 불편하므로 스푼을 내장하도록 제품을 만드는 것이 좋겠다는 의견
- 용량이 100ml이 넘어가는 경우 한번에 모두 섭취하기가 힘들어 좀 더 소량으로 제품을 생산할 필요가 있다는 의견

○ 홍보회에서 배부한 팜플렛 자료는 아래와 같음



SensorGen Inc.



KU KONKUK UNIVERSITY

[코카서스 케피리 발효유]

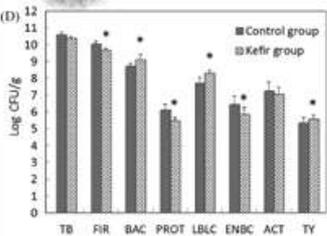
KU식품건강연구소와 공동으로 개발한 '코카서스 케피리 발효유'는 티벳버섯이라고 알려져 있는 케피어 그레인에서 분리한 *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus parakefir*, *Lactobacillus kefiranoferiens* 등의 유익한 프로바이오틱 유산균을 수억마리 이상 고농도로 함유하는 발효유로 장내세균총을 개선하여 여러분의 건강을 향상시킬 수 있는 기능성 식품입니다.



[㈜센서젠 코카서스 케피리의 효능]

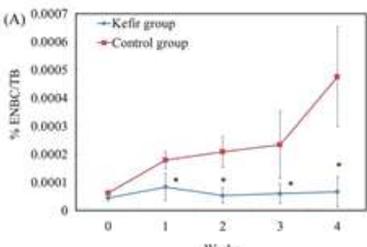


㈜센서젠이 KU식품건강연구소와 공동 연구를 통해서 개발한 '코카서스 케피리'는 50종 이상 유익 미생물의 복합 효능 및 핵심활성분자 케피란(Kefiran)을 함유하고 있습니다. 코카서스 케피리를 3주 이상 꾸준히 섭취할 경우 장내세균총 개선, 지방간 발생 억제, 비만 억제, 면역 스트레스 완화 등의 효능이 있음을 과학적으로 입증하였습니다.



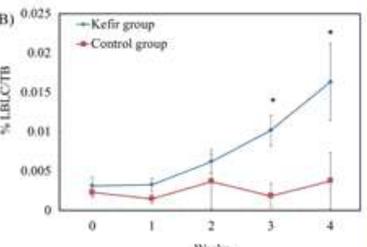
(D) Log CFU/g

Bacteria	Control group	Kefir group
TB	10.5	10.0
FIR	10.0	9.5
BAC	9.0	8.5
PROT	6.5	6.0
LBC	8.0	7.5
ENBC	7.0	6.5
ACT	7.5	7.0
TY	6.5	6.0



(A) % ENBC/TB

Weeks	Kefir group	Control group
0	0.00005	0.00005
1	0.00015	0.00010
2	0.00020	0.00010
3	0.00025	0.00010
4	0.00050	0.00010



(B) % LBC/TB

Weeks	Kefir group	Control group
0	0.005	0.005
1	0.005	0.005
2	0.008	0.005
3	0.010	0.005
4	0.015	0.005

<케피어 3주 섭취시 장내세균총 변화 양상>

<장내에서 유해균의 비율은 감소하고 유익균의 비율이 증가함>

Kim et al., 2015, Food Sci. Biotechnol.

[이런 분들에게 좋습니다]



만성 대사성 질환 관심 고객



다이어트 관심 고객



손상된 간을 회복 시키고자 하는 고객



발효유 풍미를 즐기는 고객

[본사 보유 기술]



복합 발효유 미생물증식속 QC 기술



복합발효유 핵심성분 분석 기술 1



복합발효유 핵심성분 분석 기술 2



포장기술 [발효유 포장용]

○ 홍보회 사진



(3) 특허 출원 및 균주 기탁

○ 대량생산 기술과 관련하여 아래와 같은 기술을 개발하고 특허를 출원하였음

기술 요약 : 케피어 발효유 대량생산 기술

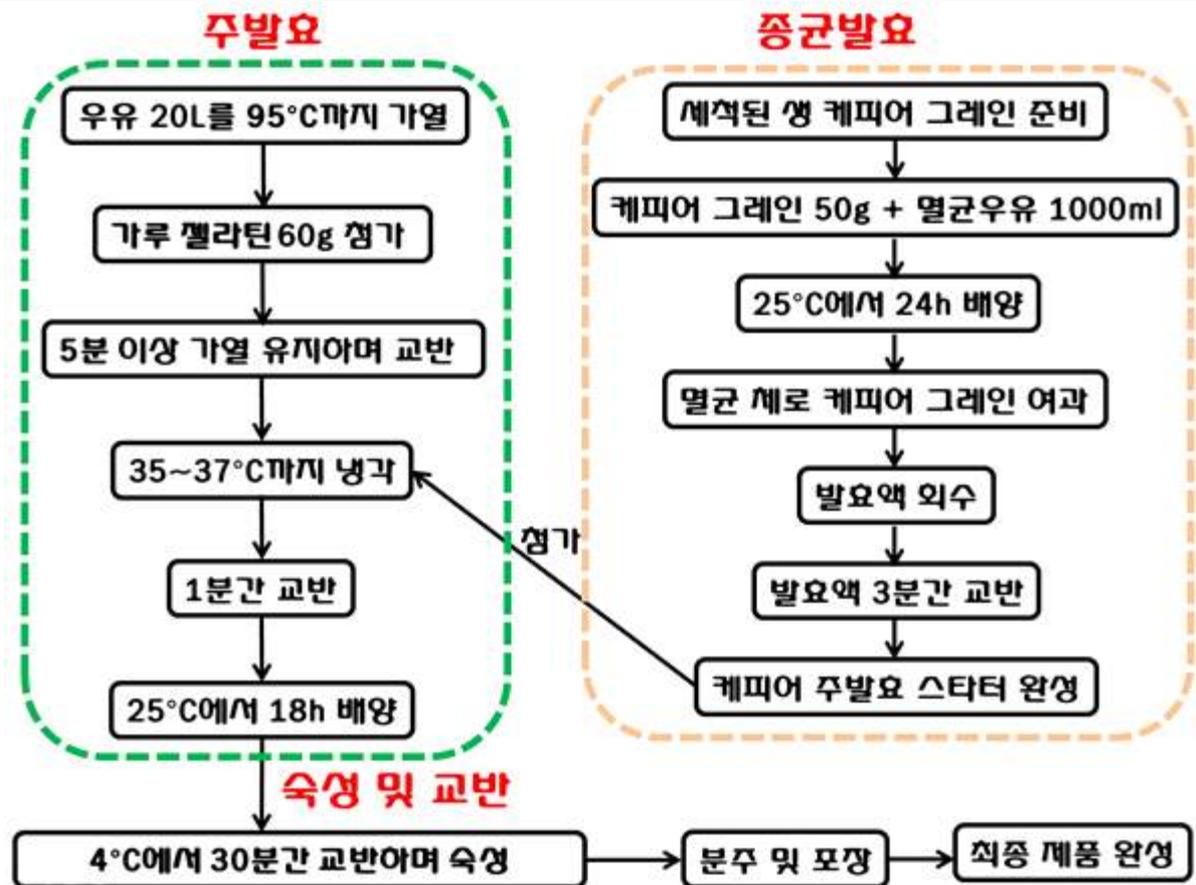
관인생략

출원번호통지서

출원일자 2015.12.04
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
 출원번호 10-2015-0172528 (접수번호 1-1-2015-1190399-91)
 출원인명칭 (주) 센서젠(1-2014-040570-0)
 대리인성명 한양특허법인(9-2000-100005-4)
 발명자성명 서건호 김동현 강일병 정다나
 발명의명칭 케피어 대량생산 기술

특 허 청 장

핵심 기술 도면



핵심 기술 설명

- 케피어는 50종 이상의 유산균, 초산균, 효모가 공생계를 형성하고 있는 천연 복합 프로바이오틱 발효유제품이다. 케피어를 정기적으로 섭취할 경우 정상작용, 항비만작용, 항염증작용, 항미생물작용 등 다양한 건강 유익효과를 얻을 수 있다고 알려져 있으며, 케피어가 처음으로 유래된 구 소련의 코카서스 지방에서는 장수식품, 당뇨병의 치료 보조식품으로서 이용되어 왔다.
- 케피어의 상업적인 이용을 위해서는 일정한 품질의 케피어를 대량으로 생산할 필요가 있지만, 케피어 미생물들의 복합 발효로 인해 생성되는 다량의 유기산으로 인한 유청분리 현상, 강한 산도에 따른 풍미 저하 및 유통기한 감소, 케피어 그래인을 사용하는 특수한 발효방식으로 인한 스타터의 불균질 분포 및 품질 불균질화 등으로 인해서 실제 산업 현장에서의 대량생산이 어려움을 겪고 있다.
- 이에 본 개발에서는 적은 양의 스타터만을 이용해서도 품질이 일정하고 유청분리가 오랫동안 일어나지 않으며 우수한 풍미를 지닌 케피어를 높은 생산효율로 생산해낼 수 있는 대량생산 기술을 개발하고자 한다.
- 본 연구에서 확립한 떠먹는 케피어 발효유 제조 방법을 이용하여 풍미가 우수하고 유청분리가 장기간 되지 않는 균일한 품질의 케피어 발효유를 대량으로 생산할 수 있었다. 본 기술을 활용하여 케피어 발효유의 생산 효율 증대 및 균일한 품질의 제품 생산 등 산업적으로 다방면에 활용 가능할 것으로 기대된다.

- 또한, 다양한 기능성 균주를 분리하여 한국미생물자원보존센터에 기탁을 실시하였음 (균주 기탁 5건)

HOME | LOGIN | REGISTER | ENGLISH

KCCM KFCC 한국미생물보존센터 한국 미생물 보존센터는 비영리 사단법인체로 발족된 한국중균협회의 부설 균주기탁 및 보존기관입니다. 검색

KCCM 소개

- 인사말
- 센터소개
- 연혁
- 오시는길

미생물분양

- 분양서비스 안내
- 검색 및 서비스 신청

미생물 동정/분석

- 동정/분석 서비스 안내
- 동정/분석 서비스 신청

미생물 특허/기탁

- 특허/기탁 서비스 안내
- 국제기탁
- 국내기탁
- 일반기탁
- 안전기탁

고객센터

한국미생물보존센터 (Korean Culture Center of Microorganisms, 이하 "KCCM: 약함)는 1967년 학계와 산업계의 과학자 및 관련 종사자들에 의해 비영리 사단법인체로 발족된 한국중균협회(Korean Federation of Culture Collections, 이하 "KFCC"로 약함)의 부설 균주기탁 및 보존기관입니다.

공지사항

- 미생물 특허기탁 수수료 변경 안내 2015-04-20
- 홈페이지 리뉴얼 안내 2014-01-16
- 미생물 분석 및 동정가격 현실화 2011-03-16
- 미생물 분양가격 현실화 2011-02-21

신균주정보

- KCCM 42951 Spingomonas sp. B2-7 2010-09-27
- KCCM 42952 Bacillus acidicola 2010-09-27
- KCCM 42953 Bacillus vietnamensis, Noguch... 2010-09-27
- KCCM 42954 Bacillus shackletonii, Logan ... 2010-09-27

<한국미생물보존센터>

- 기탁한 균주는 아래와 같음

구분	균주명	분리원
유산균	Lactobacillus kefir KU50401	본 사 보유 케피어 그레인
유산균	Lactobacillus kefir VPH02	본 사 보유 케피어 그레인
효모	Candida kefir VPH2001	본 사 보유 케피어 그레인
효모	Candida kefir VPH2002	본 사 보유 케피어 그레인
효모	Candida kefir VPH2003	본 사 보유 케피어 그레인

○ 기능성 유산균 2건

<i>Lactobacillus kefir</i> KU50401	<i>Lactobacillus kefir</i> VPH02																
 <p>미생물 일반 기탁 번호 통지서</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <p>제 2015-69 호</p> <p>2015년 10월 21일 제 2015-69 호로 귀하가 일반기탁 신청한 미생물에 대하여 이를 수리하고 다음과 같이 미생물 일반 기탁번호를 통지합니다.</p> </div> <p style="text-align: center;">다 음</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">1. 기탁미생물 명칭</td> <td><i>Lactobacillus kefir</i> KU50401</td> </tr> <tr> <td>2. 등재시 미생물 명칭</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3. 미생물 기탁번호</td> <td>KCCM 43178</td> </tr> <tr> <td>4. 기탁 일자</td> <td>2015년 10월 21일</td> </tr> </table> <p>◇ 상기 미생물은 학술적, 산업적 용도로 국내 및 국외 모든 연구자에게 제약없이 분양이 가능합니다.</p> <p style="text-align: right;">한국미생물보존센터(장) </p> <p style="text-align: center;">(주)센서젠 서 건 호 귀하</p> <p>(GD-form2)</p> <hr/> <p><small>한국미생물보존센터 100-881 서울 서초구 동원로37길 45 우정빌딩 Tel: 02-551-0910, 094-0920 Fax: 02-552-2859 KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS 10000 Hong-do, Hongsam-ro 37-gil, Seochu-gu, Seoul, 152-881, Korea Tel: 82-2-551-0910, 391-0920 Fax: 82-2-552-2859</small></p>	1. 기탁미생물 명칭	<i>Lactobacillus kefir</i> KU50401	2. 등재시 미생물 명칭		3. 미생물 기탁번호	KCCM 43178	4. 기탁 일자	2015년 10월 21일	 <p>미생물 일반 기탁 번호 통지서</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <p>제 2015-70 호</p> <p>2015년 10월 21일 제 2015-70 호로 귀하가 일반기탁 신청한 미생물에 대하여 이를 수리하고 다음과 같이 미생물 일반 기탁번호를 통지합니다.</p> </div> <p style="text-align: center;">다 음</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">1. 기탁미생물 명칭</td> <td><i>Lactobacillus kefir</i> VPH02</td> </tr> <tr> <td>2. 등재시 미생물 명칭</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3. 미생물 기탁번호</td> <td>KCCM 43179</td> </tr> <tr> <td>4. 기탁 일자</td> <td>2015년 10월 21일</td> </tr> </table> <p>◇ 상기 미생물은 학술적, 산업적 용도로 국내 및 국외 모든 연구자에게 제약없이 분양이 가능합니다.</p> <p style="text-align: right;">한국미생물보존센터(장) </p> <p style="text-align: center;">(주)센서젠 서 건 호 귀하</p> <p>(GD-form2)</p> <hr/> <p><small>한국미생물보존센터 100-881 서울 서초구 동원로37길 45 우정빌딩 Tel: 02-551-0910, 094-0920 Fax: 02-552-2859 KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS 10000 Hong-do, Hongsam-ro 37-gil, Seochu-gu, Seoul, 152-881, Korea Tel: 82-2-551-0910, 391-0920 Fax: 82-2-552-2859</small></p>	1. 기탁미생물 명칭	<i>Lactobacillus kefir</i> VPH02	2. 등재시 미생물 명칭		3. 미생물 기탁번호	KCCM 43179	4. 기탁 일자	2015년 10월 21일
1. 기탁미생물 명칭	<i>Lactobacillus kefir</i> KU50401																
2. 등재시 미생물 명칭																	
3. 미생물 기탁번호	KCCM 43178																
4. 기탁 일자	2015년 10월 21일																
1. 기탁미생물 명칭	<i>Lactobacillus kefir</i> VPH02																
2. 등재시 미생물 명칭																	
3. 미생물 기탁번호	KCCM 43179																
4. 기탁 일자	2015년 10월 21일																
Source : Kefir grain	Source : Kefir grain																
Identification : 16S rRNA sequencing	Identification : 16S rRNA sequencing																
KCCM# : KCCM43178	KCCM# : KCCM43179																
<p><Functionality> Acid tolerance Bile tolerance Cholesterol assimilation</p>	<p><Functionality> Acid tolerance Bile tolerance Cholesterol assimilation</p>																

○ 기능성 효모 3건

Candida kefir VPH2003	Candida kefir VPH2001																
 <p>미생물 일반 기탁 번호 통지서</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: 80%;"> <p style="text-align: center;">제 2015-75 호</p> <p>2015년 11월 04일 제 2015-75 호로 귀하가 일반기탁 신청한 미생물에 대하여 이를 수리하고 다음과 같이 미생물 일반 기탁번호를 통지합니다.</p> <p style="text-align: center;">다 음</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">1. 기탁미생물 명칭</td> <td style="text-align: center;">Candida kefir VPH2003</td> </tr> <tr> <td>2. 등재시 미생물 명칭</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3. 미생물 기탁번호</td> <td style="text-align: center;">KCCM 51296</td> </tr> <tr> <td>4. 기탁 일자</td> <td style="text-align: center;">2015년 11월 04일</td> </tr> </table> <p style="font-size: small;">◇ 상기 미생물은 학술적, 산업적 용도로 국내 및 국외 모든 연구자에게 제약없이 분양이 가능합니다.</p> <p style="text-align: right; margin-right: 20px;">한국미생물보존센터 </p> <p style="text-align: right;">(주)센서젠 서 건 호 귀하</p> <p style="font-size: x-small; margin-top: 20px;">(GD-form2)</p> <hr style="border: 0; border-top: 1px solid green; margin-bottom: 5px;"/> <p style="font-size: x-small; margin-bottom: 5px;"> — 한국미생물보존센터 <small>152-867 서울 서초구 동재로43길 45 우정빌딩 Tel: 02-356-0950, 398-0950 Fax: 02-350-0958</small> </p> <hr style="border: 0; border-top: 1px solid green; margin-bottom: 5px;"/> <p style="font-size: x-small; margin-bottom: 5px;"> — KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS <small>152-867 Seoul, 45 Dongjaero 43-gil, Ujeongbu-dong, Seocho-gu, Seoul, 152-867, Korea Tel: 82-2-356-0950, 398-0950 Fax: 82-2-350-0958</small> </p> </div>	1. 기탁미생물 명칭	Candida kefir VPH2003	2. 등재시 미생물 명칭		3. 미생물 기탁번호	KCCM 51296	4. 기탁 일자	2015년 11월 04일	 <p>미생물 일반 기탁 번호 통지서</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: 80%;"> <p style="text-align: center;">제 2015-74 호</p> <p>2015년 11월 04일 제 2015-74 호로 귀하가 일반기탁 신청한 미생물에 대하여 이를 수리하고 다음과 같이 미생물 일반 기탁번호를 통지합니다.</p> <p style="text-align: center;">다 음</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">1. 기탁미생물 명칭</td> <td style="text-align: center;">Candida kefir VPH2001</td> </tr> <tr> <td>2. 등재시 미생물 명칭</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3. 미생물 기탁번호</td> <td style="text-align: center;">KCCM 51295</td> </tr> <tr> <td>4. 기탁 일자</td> <td style="text-align: center;">2015년 11월 04일</td> </tr> </table> <p style="font-size: small;">◇ 상기 미생물은 학술적, 산업적 용도로 국내 및 국외 모든 연구자에게 제약없이 분양이 가능합니다.</p> <p style="text-align: right; margin-right: 20px;">한국미생물보존센터 </p> <p style="text-align: right;">(주)센서젠 서 건 호 귀하</p> <p style="font-size: x-small; margin-top: 20px;">(GD-form2)</p> <hr style="border: 0; border-top: 1px solid green; margin-bottom: 5px;"/> <p style="font-size: x-small; margin-bottom: 5px;"> — 한국미생물보존센터 <small>152-867 서울 서초구 동재로43길 45 우정빌딩 Tel: 02-356-0950, 398-0950 Fax: 02-350-0958</small> </p> <hr style="border: 0; border-top: 1px solid green; margin-bottom: 5px;"/> <p style="font-size: x-small; margin-bottom: 5px;"> — KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS <small>152-867 Seoul, 45 Dongjaero 43-gil, Ujeongbu-dong, Seocho-gu, Seoul, 152-867, Korea Tel: 82-2-356-0950, 398-0950 Fax: 82-2-350-0958</small> </p> </div>	1. 기탁미생물 명칭	Candida kefir VPH2001	2. 등재시 미생물 명칭		3. 미생물 기탁번호	KCCM 51295	4. 기탁 일자	2015년 11월 04일
1. 기탁미생물 명칭	Candida kefir VPH2003																
2. 등재시 미생물 명칭																	
3. 미생물 기탁번호	KCCM 51296																
4. 기탁 일자	2015년 11월 04일																
1. 기탁미생물 명칭	Candida kefir VPH2001																
2. 등재시 미생물 명칭																	
3. 미생물 기탁번호	KCCM 51295																
4. 기탁 일자	2015년 11월 04일																
Source : Kefir grain	Source : Kefir grain																
Identification : ITS sequencing	Identification : ITS sequencing																
KCCM# : KCCM51296	KCCM# : KCCM51295																
<p><Functionality></p> <p>Acid tolerance</p> <p>Lactose fermentation</p>	<p><Functionality></p> <p>Acid tolerance</p> <p>Ethanol production</p>																



미생물 일반 기탁 번호 통지서

제 2015-73 호	
2015년 11월 04일 제 2015-73 호로 귀하가 일반기탁 신청한 미생물에 대하여 이를 수리하고 다음과 같이 미생물 일반 기탁번호를 통지합니다.	
다 음	
1. 기탁미생물 명칭	<i>Candida kefyr</i> VPH2002
2. 등재시 미생물 명칭	
3. 미생물 기탁번호	KCCM 51294
4. 기탁 일자	2015년 11월 04일

◇ 상기 미생물은 학술적, 산업적 용도로 국내 및 국외 모든 연구자에게 제약없이 분양이 가능합니다.

한국미생물보존센터(장)



(주)센서젠 서 건 호 귀하

(GD-form2)

한국미생물보존센터
100-880 서울서초구 동재42길 45 무원빌딩 Tel: 02-391-0950, 396-0950 Fax: 02-392-2859
KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS
Yoonm Bldg, 45, Dongjae42-gil, Seochon-mun-gu, Seoul 100-880, Korea Tel: 82-2-391-0950, 396-0950 Fax: 82-2-392-2859

Source : Kefir grain

Identification : ITS sequencing

KCCM# : KCCM51294

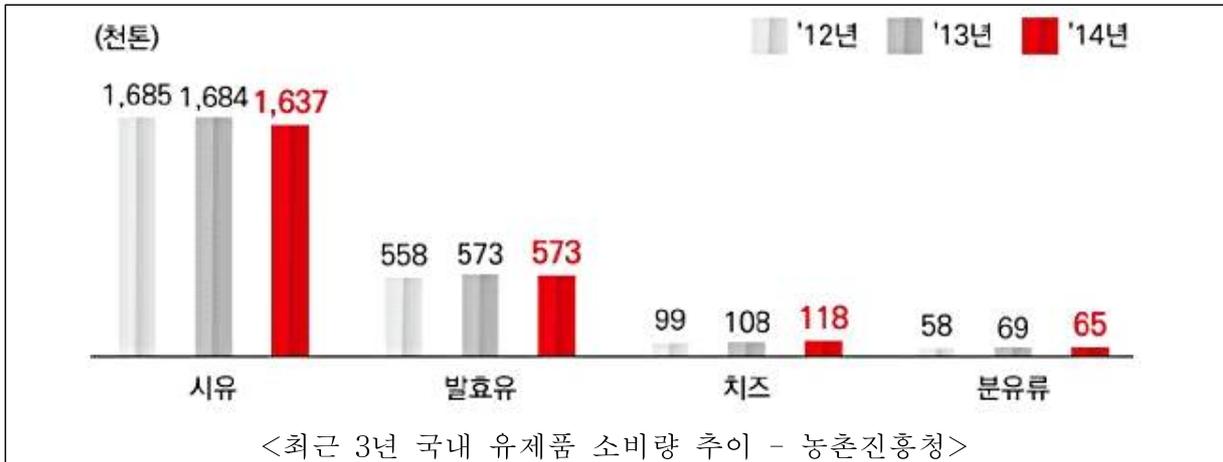
<Functionality>
Acid tolerance
Lactose fermentation

(4) 제품출시를 위한 시장분석

“ 시장분석 키워드 : 발효유, 건강기능식품, 프로바이오틱스, 티벳버섯(케피어) ”

가. 국내 발효유 시장의 현황

- 2014년 기준, 국내 발효유 연 소비량은 573천톤으로 유제품 중 시유 다음으로 많이 소비되고 있음
- 시유의 경우 잉여원유 해소를 위해 유업체가 실시한 유제품 할인행사, 신제품 출시, 제 품리뉴얼 등 소비촉진 노력에도 불구하고, 국내 경기침체와 대체음료 수요 증가, Anti-Milk 등으로 유제품 시장 전반적인 소비가 위축되고 있음
- 하지만, 이러한 추세에도 불구하고 건강기능식품에 대한 관심 증가에 따라서 발효유 소비는 꾸준히 상승세에 있음



연도	공급 Total supply				소비 Total use			
	국내생산 Domestic production			수입 Imports	국내소비 Domestic consumption			수출 Exports
	액상 Liquid type	호상 Cream type	합계		액상 Liquid type	호상 Cream type	합계	
				단위: 톤				In tons
2005	482,521	326,755	155,683	83	483,036	320,778	155,770	6,488
2006	504,404	330,776	173,484	144	504,356	323,956	173,434	6,966
2007	485,432	309,183	176,035	214	485,432	303,604	176,043	5,785
2008	455,007	289,227	165,704	76	454,724	284,207	165,643	4,874
2009	445,803	268,404	177,334	65	445,572	262,408	177,170	5,994
2010	502,686	373,322	129,282	82	502,077	367,454	129,252	5,371
2011	522,140	395,214	126,791	135	522,036	389,703	126,984	5,349
2012	557,763	444,753	112,886	124	557,715	438,740	112,855	6,120
2013	573,872	456,571	117,101	200	573,343	449,737	117,173	6,433
2014	572,735	463,911	108,507	317	573,424	458,911	108,158	6,355

<최근 10년 국내 발효유 공급 및 소비량 - 농촌진흥청>

나. 국내외 건강기능식품 시장의 현황

- 주춤하고 있는 유제품(시유, 발효유) 시장과는 다르게 소비자들의 건강에 대한 관심도가 늘어나면서 홍삼, 프로바이오틱스 등의 건강기능식품 시장은 활성화 되고 있음
- 기능성 내용별 점유율을 보면 면역기능개선 24.8%, 혈행개선 22.3%, 항산화기능 20.6%로 나타나 상위 3개 기능성이 전체 기능성 시장의 약 60%를 점유하고 있음



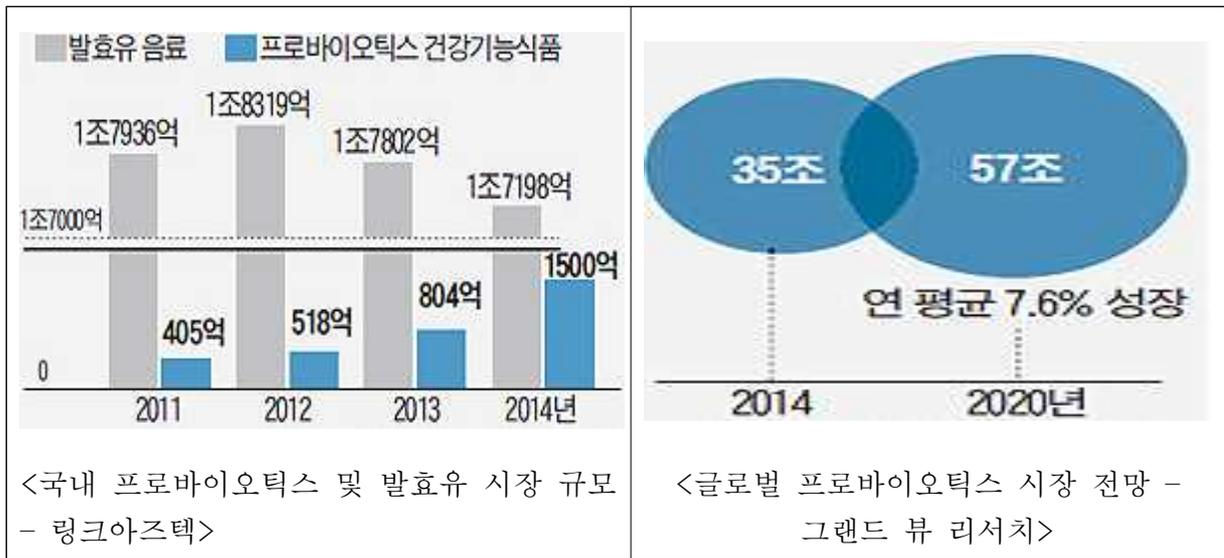
- 식품의약품안전처에서 조사한 국내 건강기능식품 매출액 상위 20개 품목을 보면 홍삼, 비타민과 더불어 프로바이오틱스가 매출액 4위(약 138,8억원)를 차지하고 있음

순위	매출액	
	품목명(Item)	금액(천 원)
	총계 Total	1,574,886,862
1	홍삼	633,022,611
2	개별인정제품	317,651,566
3	비타민 및 무기질	141,549,733
4	프로바이오틱스	138,840,251
5	알로에	67,627,023
6	가르시니아캄보지아추출물	57,549,627
7	오메가-3 지방산 함유 유지	42,565,871
8	인삼	39,559,837
9	밀크씨슬추출물	22,107,048
10	감미리놀렌산 함유 유지	15,047,440

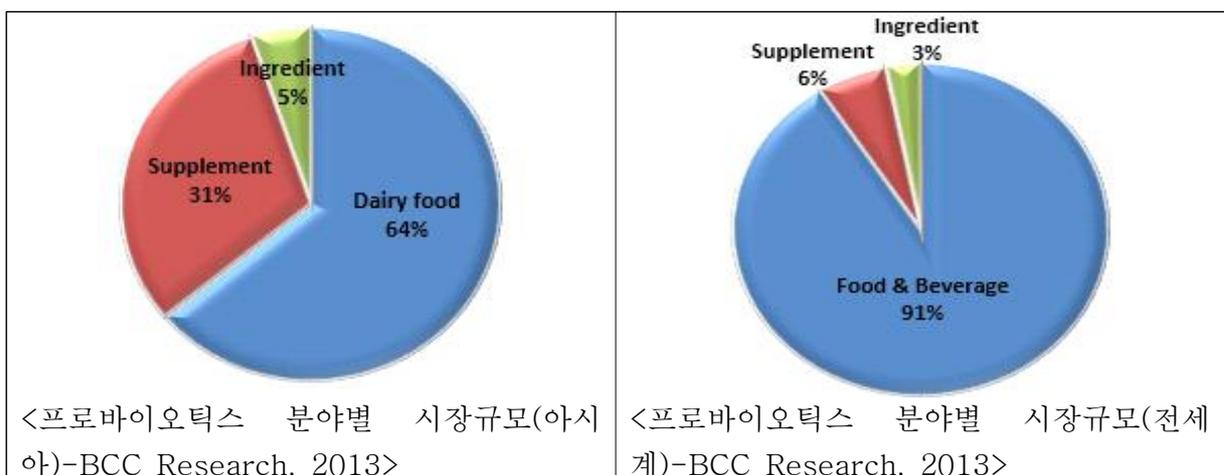
<건강기능식품 매출액 상위 20개 품목 현황, 식품의약품안전처, 2014. 11>

다. 국내외 프로바이오틱스 시장의 현황

- 유산균 발효유 시장이 최근 정체 상태인 것과 대비되어, 국내 프로바이오틱스 건강기능식품 시장 규모는 최근 3~4년 동안 4배 가까운 규모로 고속 성장하고 있음
- 글로벌 프로바이오틱스 시장 규모 또한 2014년 기준 35조로 추정되며, 연 평균 7.6% 성장률을 보이고 있어 2020년에는 57조로 성장할 것으로 전망되어짐



- 2016년 1월 현재 식품의약품안전처에 등록된 국내 건강기능식품 중 제품명에 ‘프로바이오틱스’라고 명시한 제품은 총 222종으로 그 유형은 발효유, 알약, 분말가루, 식품첨가제 등 다양함 (식품의약품안전처 식품안전정보포털, 2016)
- 국외 분야별 시장 규모를 보면 아시아는 Dairy food(유제품)이 64%, 전세계적으로도 Food & Beverage(식품 및 음료) 91%로, 일반식품으로써의 프로바이오틱스 시장이 가장 활발한 것으로 조사됨(BCC Research, 2013)



라. 현재(2015년 11월) 케피어 상품 국내 판매 현황

- 케피어 발효유와 관련된 제품이 판매되고 있는 사례는 타 발효유제품에 비하여 극소수임
- 현장 판매는 거의 이루어지지 않고 있으며, 대부분 인터넷으로 주문 판매되고 있음
- 액상으로 판매되는 케피어S(네이처런스), 동결건조분말 형태로 판매되는 케피어분말(요거메트)가 거의 유일한 판매
- 2010-2012년 (주)더멋진바이오텍 이라는 회사에서는 액상 형태의 ‘헤븐스 케피어’ 및 파우치 형태의 ‘코카시안케피어’라는 제품을 판매하였으나 현재는 폐업 상태임

제품명(제조사)	케피어S (네이처런스)	케피어분말 (요거메트)
제품이미지		 요거메트 요거트 만들기 케피어 종균(티벳버섯분말)
성상	액상발효유	동결건조분말
가격	140ml 한 병당 1,200원	한 포당 5g, 1700원
판매경로	인터넷 주문 판매	인터넷 주문 판매
단점	효능 규명된 바 없음 제조합 케피어	효능 규명된 바 없음 제조합 케피어 분말 수입제품

마. 개발된 제품의 수요예상자

- 수요 예상자 : 개발된 케피어 발효유는 다음과 같은 사람들이 주로 구매를 할 것으로 파악됨
 - 중-노년 층의 만성 대사성 질환 관심 고객
 - 젊은 층을 중심으로 한 다이어트 관심 고객
 - 효도상품용 건강기능식품 구매자
 - 장수 식품 섭취와 발효유 풍미를 동시에 즐기고자 하는 고객
- 인터넷 홈페이지를 개설하여 원거리 배송 판매, 본사 근교 주상복합 더클래식500 및 스타시티에는 배달 판매 등을 실시할 예정

바. 사업성에 대한 자체 분석

- 아래와 같은 분석을 근거로 하여 케피어 발효유제품이 시장성이 매우 높을 것으로 판단됨
- 최근 케피어 발효유에 대한 관심이 증폭되었던 점
- 건강기능식품에 대한 관심 증가로 국내 발효유제품 소비량이 꾸준히 증가중
- 기존의 발효유제품에 비하여 독특한 풍미를 가지고 있고 기능성 또한 우수한 점
- 이미 관련 자원, 기술, 설비를 갖추었고, 효능에 대한 예비실험을 마쳤으며 판매 대상자가 분명한 점

사. 케피어에 대한 소유권, 기능성 차별화, 지표물질 확보

A. 케피어의 소유권

- 케피어는 전통적으로 구전적인 유래만 알려진 식품소재로, 발효 스타터인 케피어 그레이인을 어떻게 만드는 것인지, 어디서 최초로 유래되었는지, 어떻게 만들어지는지에 대한 정보는 전무하며 이는 학술적으로도 이미 널리 알려진 사실임
- 또한, 5W1H원칙에 의거하여 누가, 언제, 어디서(어느 국가)에서 최초로 케피어를 만들었는지에 대한 정보가 전무하기 때문에 소유권에 대한 문제가 발생할 여지가 없음 (원천적인 소유권을 주장할 국가, 단체, 또는 개인이 없음)
- 이러한 이유로 유럽, 북미, 남미, 아시아의 다양한 국가들에서 케피어를 활용한 발효유가 상업적으로 생산 및 시판되고 있는 실정이며, 이러한 제품들에서 케피어의 소유권 분쟁으로 인한 마찰이 발생했다는 보고 및 뉴스를 찾아볼 수 없음
- 따라서, 개발된 제품에 대하여 케피어의 소유권 문제는 예상되지 않음

B. 케피어 제품의 기능성 차별화

- 현재 국내 및 전 세계적으로 시판되고 있는 케피어 제품들의 경우 주로 정장작용에만 초점을 맞추어 판매되고 있음
- 대사성 지방간병이나 혈중 콜레스테롤 수치 감소 등의 효능이 밝혀진 케피어 제품은 전 세계적으로도 전무함
- 따라서, 전 세계의 대사성 지방간병 유병률 및 관련 제품 여부를 토대로 판단하였을 때, 본사에서 개발한 케피어 발효유 제품의 대사성 지방간병 예방효과는 국내 및 해외에서도 경쟁력을 가질 수 있는 차별화된 기능성이라고 사료됨

C. 지표물질 확보

- 본사의 케피어 발효유에는 Codex에서 지표 미생물로 지정한 *Lactobacillus kefir*가 포함되어 있어 다른 발효유들과 구분할 수 있음
- 본 지표 미생물을 활용하여 다른 종류의 발효제품 및 유사품과도 구별할 수 있을 것으로 사료됨

(5) 최종 제품 출시

○ 아래와 같은 3종의 최종 제품을 개발하였다

오리지널 케피어 발효유	블루베리 케피어 발효유	동결건조 케피어 그레인
		
<p>오리지널 케피어 발효유는 50종 이상의 유산균-효모-초산균을 함유하고 있는 천연 복합 프로바이오틱스 제품이다. 개발된 제품을 3주 이상 꾸준히 섭취하는 경우 장내세균총의 개선(유익균총 증가 및 유해균총 감소) 및 대사성 지방간병 예방효과를 볼 수 있다.</p>	<p>오리지널 케피어 발효유에 항산화 기능이 뛰어나다고 알려진 블루베리를 첨가하여 풍미를 개선한 제품으로, 어린이 등 천연 발효유의 풍미에 익숙치 않은 소비자를 위한 제품이다.</p>	<p>집에서 직접 케피어 발효유를 제조해 먹고자 하는 소비자층을 위한 제품으로, 보관이 용이하고 유통기간이 매우 길며 한번 구매하면 영구적으로 사용이 가능한 발효 스타터 제품이다.</p>

(6) 기술실시

가. 기술실시 - 커피어 대량생산 기술

- 본 연구팀이 개발한 “커피어 대량생산 기술 (특허출원 10-2015-0172528)을 자체 활용하기 위하여 기술실시계약을 체결하였음 (2016.2.19.)

정부3.0, 국민과의 약속



농림수산식품기술기획평가원



수신자 주식회사 센서젠 대표

(경유)

제목 기술로 감면 승인 알림(주식회사 센서젠)

1. 귀 기관의 무궁한 발전을 기원합니다.

2. 농림수산식품 연구개발사업 기술실시 계약(센서젠 제 00012호, 2016.2.19.)과 관련됩니다.

3. 귀 기관에서 요청한 기술로 감면 건에 대해 아래와 같이 승인하오니 불일의 후속 조치 사항을 참조하시어 기술실시보고서 제출 및 기술로 납부에 차질이 없도록 진행해 주시기 바랍니다.

- 아 래 -

가. 승인내역

사업명	과제명	주관연구기관/실시 기업	정부출연금	당초기술료*	최종 기술료**
고부가가치 식품기술 개발사업	커피어 발효유(리벳버섯 발효유)의 대량성 지방간병 예방 기능성 규명 및 신규 제품 3종 개발을 통한 고부가가치화	주식회사 센서젠/ 주식회사 센서젠	50,000천원	50,000천원 (정부출연금의 10%)	700천원 (참여 중소기업이 기술실시하는 경우 80% 감면, 일시납 추가감면 30%)

* 주관연구기관(영리)이 기술실시계약을 체결함에 따라 정부출연금의 10~40% 수준에서 정액으로 책정되는 정부납부기술료로 감면되기 이전의 금액

** 주관연구기관(영리)이 실시기업으로부터 징수하여 전문기관에 납부해야 하는 기술료(실시기업의 유형, 납부방식에 따라 기술료 감면을 적용한 금액)

- 기술실시 활용 계획: (주)센서젠은 커피어의 생산 및 품질관리 측면에서 국내 최고의 기술을 보유하고 있는 업체로 제반 시설 및 공정관리 능력, 연구 장비 등을 전부 보유하고 있음. 향후에는 아래와 같이 활용할 계획임

- 1) 커피어 발효유 대량 생산
- 2) 커피어 그레인 증량을 통한 스타터 상품 생산
- 3) 가미/가당 커피어 발효유 제품 생산

나. 기술이전

- 본 연구팀이 개발한 기술을 홍보하기 위하여 “건국대학교·가톨릭대학교 우수 기술 설명회”에 참석하여 “정장작용, 항염, 면역증강 효능이 있는 케피어 발효유의 선택적 감별 기술”이라는 제목으로 발표를 실시하였음
- 다양한 업체들이 참가한 자리에서 본사가 개발, 보유하고 있는 우수기술을 소개하여 상호간 기술 거래를 이루어지게 하는 자리였음
- 본 발표회를 통해서 ‘네이처런스’, ‘노바렉스’, ‘메디오젠’등의 업체들과 본사 보유 기술에 대한 간담회를 할 수 있었음
- 또한, 2016년 1월 7일 오후 2시에 ‘노바렉스’ 및 ‘메디오젠’과 함께 기술거래를 위한 후속 미팅을 가졌음

회의 일시	2016년 1월 7일 목요일 오후 2시
회의 장소	(주)센서젠 회의실 (건국대학교 수의과대학 508호)
회의 참석자	<ul style="list-style-type: none"> ❖ (주)센서젠: 서건호 대표이사 ❖ KU식품건강연구소: 김동현 연구원 ❖ (주)메디오젠: 백남수 대표이사 ❖ (주)노바렉스: 민복기 상무이사, 안영은 사원
안건 및 의견	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 회사 소개 ❖ 추후 상용화 및 산업화를 위한 3社の 공동 연구과제에 대한 논의 ❖ 상용화를 위한 3社 역할 분배 <ul style="list-style-type: none"> • (주)센서젠: 원천 기술 개발 및 기술 이전 • (주)메디오젠: 대량생산 기술을 활용한 대량생산 및 원료 공급 • (주)노바렉스: 최종 시제품 생산 및 개별인정 ❖ 제품의 최종 형태에 대한 논의: 동결건조 스타터 분말 필요 ❖ 스타터 대량생산을 위한 기술 논의 ❖ 인증기술 추가 개발

- 위와 같이 3社의 기술이전 및 공동연구를 통한 후속 회의를 실시함에 따라서 본사가 개발한 기술 거래를 위한 발판을 마련하였음
- 본사에서 기 개발한 기술의 보완점 등에 대한 의견을 얻어 이를 추가 연구에 반영하여 향상된 기술에 대한 기술 거래를 실시할 예정
- 2016년 4월 중 2차 후속 회의를 통하여 기술거래를 실시를 구체화할 예정
- 기술거래 및 후속 연구를 위한 인적, 기술적 네트워크를 확립하였음

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	평가항목	비중	개발목표치	달성내역	달성도 (%)
1차년도	1. 케피어 그레인 활성 최적화 : 발효유 제조 공정 개발	30%	학술발표 1건 특허출원 1건	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 학술발표 1건 달성 - 2015 춘계 대한수의학회, 포스터 발표 1건 ❖ 특허출원 1건 달성 - 케피어 대량생산 기술, 10-2015-0172528 	100
	2. 기존 제품 대비 대사성 지방간 예방 기능 우수성 입증	20%	학술발표 1건 SCI논문 1건	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 학술발표 1건 달성 - 2015 정기 축산식품학회, 포스터 발표 1건 ❖ SCI 논문 1건 달성 - Food Science and Biotechnology (SCIE), Modulation of intestinal microbiota by kefir administration, 2015, 24(4): 1397-1403 	100
	3. 대량생산기술 및 동결건조기술을 활용한 3종 시제품 개발	30%	시제품 3건 기술실시 1건	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 시제품 3건 달성 - 오리지널 케피어 발효유 - 블루베리 케피어 발효유 - 동결건조 케피어 그레인 ❖ 기술실시 1건 달성 - 케피어 대량생산 기술 	100
	4. 웹사이트 판매망 구축 및 제품 출시	20%	홍보 1건 균주기탁 5건	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 홍보 1건 달성 - 2015 식품위생안전성학회 정기 학술대회 부스 전시회 - 시음 및 홍보 행사 ❖ 균주기탁 5건 달성 - Lactobacillus kefir KU50401 - Lactobacillus kefir KU50402 - Candida kefir VPH2001 - Candida kefir VPH2002 - Candida kefir VPH2003 	100

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 산업화 및 실용화 계획

- ◆ 본사에서 개발한 커피어 3종 제품 (오리지널 커피어 발효유, 블루베리 커피어 발효유, 동결 건조 커피어 그레인) 및 커피어 대량생산 기술은 현재 본사를 우리나라의 발효유 시장에 첫 발을 내딛게 하는 역할을 했다고 판단됨
- ◆ 홍보회 등을 개최한 결과, 본사 개발 제품에 대한 긍정적인 피드백이 돌아와 인터넷 판매망 등을 통한 수익 창출은 긍정적으로 전망됨
- ◆ 하지만, 아직까지 실제 산업 수준의 대량생산이 시도되지 않았으며, 제품이 개별인정을 받기까지는 추후 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료됨
- ◆ 본 연구에서 개발한 기술 및 제품을 기초로 하여 다양한 업체들과 공동 연구개발을 통하여 본사의 원천 기술이 최종 커피어 발효유 제품의 생산 및 품질 관리에 이용될 수 있도록 계속해서 연구를 수행할 예정임
- ◆ 또한, 본사에서 확보 및 기탁한 개별 균주들을 이용하여 개별적 probiotics 제제를 생산할 수 있을 것으로 사료됨

2. 특허 및 논문확보 계획

- ◆ 본사는 본 연구과제를 수행하며 ‘커피어 대량생산 기술’이라는 특허를 출원한 바 있음
- ◆ 추후 대량생산 전문업체와 공동 연구를 통해서 본사에서 개발한 커피어 대량생산기술이 실제 산업 현장에서 유연하게 활용될 수 있도록 후속 연구를 진행할 계획임
- ◆ 이를 통해서 본 연구에서 출원한 특허에 대한 보정의견을 제출함으로써 최종적으로는 국내에서는 전무한 ‘커피어 대량생산 기술’을 특허등록 시키는 것이 목표임
- ◆ 또한, 본사에서 확보한 균주들에 대해서 지방간 예방 효능을 개별적으로 검증하여 균주특허를 확보하는 것이 목표임

- ◆ 이러한 균주들을 이용하여 in vivo 실험을 실시하여 지방간 예방 효과에 대한 과학적 근거들을 종합하여 논문으로 작성할 예정
- ◆ 본 연구를 통해 기 게재한 ‘커피어의 장내세균총 개선효과’ 논문의 결과와 비교 고찰을 실시하여 개별 균주의 장내세균총 개선 효과에 대해서도 연구할 예정

3. 추가 연구 및 타 연구에 활용 계획

- ◆ 최근 식품 산업에서 첨가물 사용을 지양하는 추세가 나타남에 따라서, 본 연구에서 사용한 젤라틴 대신 smoothing 기법 등 첨가물을 사용하지 않으며 제품의 질감을 개선할 수 있는 방법에 대한 추가 연구가 이루어지면 좋을 것으로 판단됨
- ◆ 또한, 본 연구에서는 오염 방지를 위해서 멸균우유를 커피어 발효유 생산 원료로 사용하였지만 저지방우유, 원유 등 다양한 우유를 사용하여 커피어 발효유를 생산, 그 풍미를 비교하는 것도 고유의 경쟁력을 확보하는데 도움이 될 것이라고 사료됨

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 케피어 발효유의 본고장인 유럽 터키의 케피어 회사인 danemkefir 社의 홈페이지에서 케피어 발효유 제품 및 케피어 발효유 소개와 관련된 정보를 수집하였음
- 대사성 지방간병 예방 기능성 분석을 위한 in vitro 및 in vivo 연구의 디자인 및 실험 기법 탐색을 위하여 Web of Science DB (<http://webofknowledge.com>) 및 Pubmed DB (www.pubmed.com)를 활용하였음
- 케피어의 국제 식품 규격을 조사하기 위해서 Codex alimentarius (http://www.google.co.kr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjVj8iY-6HKAhUGqJQKHV9WAq4QFggaMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.codexalimentarius.org%2Finput%2Fdownload%2Fstandards%2F400%2FCXS_243e.pdf&usg=AFQjCNH0b3oBnxiXGUUBVu5NLJ61saovWA&bvm=bv.111396085,d.dGo)의 Codex Standard for Fermented milk (CODEX STAN 243-2003)을 참조하였음

CODEX STANDARD FOR FERMENTED MILKS	
CODEX STAN 243-2003	
1. SCOPE	
This standard applies to fermented milks, that is Fermented Milk including, Heat Treated Fermented Milks, Concentrated Fermented Milks and composite milk products based on these products, for direct consumption or further processing in conformity with the definitions in Section 2 of this Standard.	
2. DESCRIPTION	
2.1 <i>Fermented Milk</i> is a milk product obtained by fermentation of milk, which milk may have been manufactured from products obtained from milk with or without compositional modification as limited by the provision in Section 3.3, by the action of suitable microorganisms and resulting in reduction of pH with or without coagulation (iso-electric precipitation). These starter microorganisms shall be viable, active and abundant in the product to the date of minimum durability. If the product is heat-treated after fermentation the requirement for viable microorganisms does not apply.	
Certain Fermented Milks are characterized by specific starter culture(s) used for fermentation as follows:	
Yoghurt:	Symbiotic cultures of <i>Streptococcus thermophilus</i> and <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> .
Alternate Culture Yoghurt:	Cultures of <i>Streptococcus thermophilus</i> and any <i>Lactobacillus</i> species.
Acidophilus Milk:	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Kefir:	Starter culture prepared from kefir grains, <i>Lactobacillus kefir</i> , species of the genera <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> and <i>Acetobacter</i> growing in a strong specific relationship. Kefir grains constitute both lactose fermenting yeasts (<i>Kluyveromyces marxianus</i>) and non-lactose-fermenting yeasts (<i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Saccharomyces exiguus</i>).
Kumys:	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> and <i>Kluyveromyces marxianus</i> .

제 7 장 연구시설·장비 현황



<Real-time PCR>



<동결건조기>



<초저온냉동고>



<발효기 - incubator>



<Milk bath>



<pH 측정기>



<자동화핵산추출기>



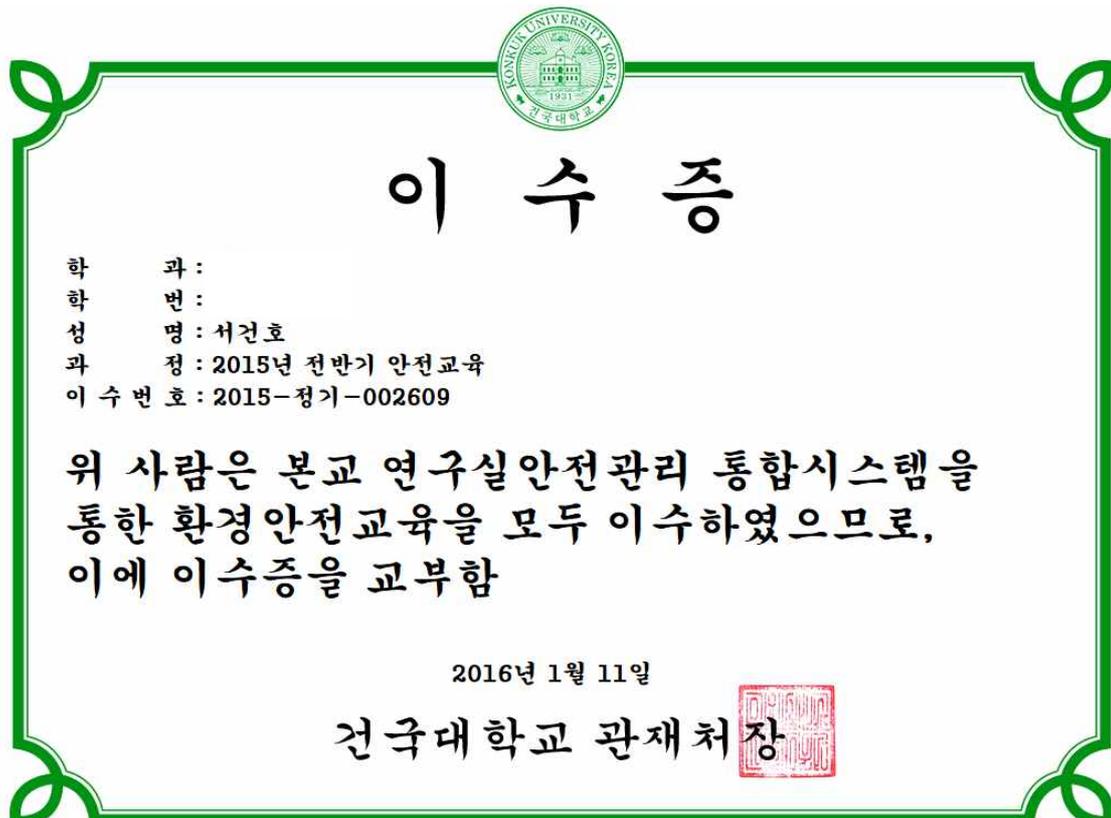
<Clean bench>

제 8 장 연구실 안전관리 이행실적

- ❖ 본 사는 건국대학교의 실험실 벤처 기업으로, 건국대학교 내 안전관리 규정에 따라 정기적으로 안전교육을 받고, 안전점검 표를 제출함



- ❖ 본 연구팀의 연구 책임자는 아래와 같이 2015 안전교육을 이수하고, 교육 내용에 맞게 안전관리를 실시하였음



제 9 장 참고문헌

- 낙농진흥회, 2014 낙농통계연감.
- 식품의약품안전처. 2015 식품의약품 통계연보 (Food & Drug Statistical Yearbook)
- 식품의약품안전처. 식품안전정보포털 건강기능식품 통계자료
- 발효식품학. 이삼빈, 양자영, 김재근, 고경희, 오성훈 저. 도서출판 효일.
- 동물미생물공학. 강대경, 김동운, 김병기, 김수기, 배인휴, 오세종, 이상석, 이성실, 전체옥, 조광근 저. 유한문화사
- AHMAD, S., KHAN, Z., MUSTAFA, A.S. and KHAN, Z.U. 2002. Seminested PCR for diagnosis of candidemia: comparison with culture, antigen detection, and biochemical methods for species identification. J. Clin. Microbiol. 40, 2483-2489.
- CHON, J.W., KIM, H.S., SONG, K.Y., KIM, D.H., KIM, H.S., YIM, J.H., CHOI, D., HWANG, D.G., KIM, Y.G., LEE, S.K. and SEO, K.H. 2013. Functional characteristics of kefir as a fermented dairy product: A Review. Korean J. Dairy Sci. Technol. 31, 99-108
- 발효공학, 유주현, 변유량 저, 도서출판 효일
- 월간 낙농 2015. 5. 분유재고 현황과 해법. 낙농진흥회. 축산신문
- 월간 낙농 2015. 10. TMR의 모든 것. 낙농진흥회. 축산신문
- CHUNG, H.S., KIM, Y.B., CHUN, S.L. AND JI, G.E. 1999. Screening and selection of acid and bile resistant bifidobacteria. Int. J. Food Microbiol. 47, 25-32.
- DE VUYST, L. and NEYSENS, P. 2005. The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. Trends Food Sci. Technol. 16, 43-56.
- DOBSON, A., O'SULLIVAN, O., COTTER, P.D., ROSS, P. and HILL, C. 2011. High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. FEMS Microbiol. Lett. 320, 56-62.
- 이종익, 송광영, 천정환, 현지연, 서건호. 한국형 Koumiss제조 특성에 관한 연구. 한국식품영양학회, <한국식품영양학회지> 24권 3호. 2011 pp.367-375
- 이종익, 송광영, 천정환, 현지연, 김현숙, 서건호. 연구논문 : Kefir의 투여가 당뇨병 마우스의 혈당치에 미치는 영향. 한국식품영양학회, <한국식품영양학회지> 24권 1호. 2011 pp.79-84
- 이종익, 송광영, 천정환, 현지연, 서건호. 보문 : Kefir Grain의 Polysaccharide에

- 의한 HRV S-2의 MA-104 세포 감염억제. 한국축산식품학회, <한국축산식품학회지> 31권 1호. 2011 pp.81-85
- 이종익, 송광영, 천정환, 현지연, 서건호. Kefir가 HumanRotavirus의 세포 감염 억제 및 당뇨병 Mouse에 미치는 영향; 총설. 한국유가공기술과학회, <한국유가공기술과학회지> 29권 1호. 2011 pp.1-15
 - 이종익, 송광영, 천정환, 현지연, 서건호. 연구논문 : 당뇨병 치료 보조식품으로서의 Kefir의 이화학 특성. 한국식품영양학회, <한국식품영양학회지> 23권 4호. 2010 pp.462-469
 - 천정환, 김현숙, 송광영, 김동현, 김홍석, 임진혁, 최다솜, 황대근, 김영지, 이수경, 서건호. 발효낙농유제품인 Kefir 다양한 기능 및 특성: 총설. 한국유가공기술과학회, <한국유가공기술과학회지> 31권 2호. 2013 pp.99-108
 - FACKLAM, R. 2002. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. Clin. Microbiol. Rev. 15, 613-630.
 - FARNWORTH, E.R. 1999. Kefir: from folklore to regulatory approval. J. Nutra. Funct. Med. Foods 1, 57-68.
 - FARNWORTH, E.R. 2006. Kefir—a complex probiotic. Food Sci. Technol. Bull. Funct. Foods 2, 1-17.
 - FARNWORTH, E.R. and MAINVILLE, I. 2003. Kefir: a fermented milk product. In: Farnworth, E.R. ed, Handbook of Fermented Functional Foods. CRC Press, Boca Raton, FL, 77-112.
 - FURET, J.P., QUENEE, P. and TAILLIEZ, P. 2004. Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. Int. J. Food Microbiol. 97, 197-207.
 - GONZÁLEZ, A., HIERRO, N., POBLET, M., MAS, A. and GUILLAMÓN, J.M. 2006. Enumeration and detection of acetic acid bacteria by real-time PCR and nested PCR. FEMS Microbiol. Lett. 254, 123-8.
 - GUZEL-SEYDIM, Z., KOK-TAS, T. and GREENE, A.K. 2011. Review: functional properties of kefir. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 51, 261-8.
 - GUZEL-SEYDIM, Z., WYFFELS, J.T., SEYDIM, A.C. and GREENE, A.K. 2005. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscopic observation. Int. J. Dairy Technol. 58, 25-9.
 - HEILIG, H.G., ZOETENDAL, E.G., VAUGHAN, E.E., MARTEAU, P., AKKERMANS, A.D. and DE VOS, W.M. 2002. Molecular diversity of

Lactobacillus spp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 114–123.

- HIERRO, N., ESTEVE-ZARZOSO, B., GONZÁLEZ, A., MAS, A. and GUILLAMÓN, J.M. 2006. Real-time quantitative PCR (QPCR) and reverse transcription-QPCR for detection and enumeration of total yeasts in wine. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 7148–7155.
- LOPEZ, I., RUIZ-LARREA, F., COCOLIN, L., ORR, E., PHISTER, T., MARSHALL, M., VANDER GHEYNST, J. and MILLS, D.A. 2003. Design and Evaluation of PCR Primers for Analysis of Bacterial Populations in Wine by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:, 6801–6807.
- MAGALHÃES, K.T., MELO, PEREIRA, G.V., CAMPOS, C.R., DRAGONE, G. and SCHWAN, G.F. 2011. Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition. *Braz. J. Microbiol.* 42, 693–702.
- MATSUKI, T., WATANABE, K., FUJIMOTO, J., MIYAMOTO, Y., TAKADA, T., MATSUMOTO, K., OYAIZU, H. and TANAKA, R. 2002. Development of 16S rRNA-gene-targeted group-specific primers for the detection and identification of predominant bacteria in human feces. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5445–51.
- MUYZER, G., DE WAAL, E.C. and UITTERLINDEN, A.G. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 695–700.
- PINTADO, M.E., LOPES, D.A. SILVA, J.A., FERNANDES, P.B., MALCATA, T.A. and HOGG, F.X. 1996. Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. *Int. J. Dairy Food Sci. Technol.* 31, 15–26.
- PARK, E.J., CHANG, H.W., KIM, K.H., NAM, Y.D., ROH, S.W. and BAE, J.W. 2009. Application of quantitative real-time PCR for enumeration of total bacterial, archaeal, and yeast populations in kimchi. *J. Microbiol.* 47, 682–685.
- PICARD, F.J., KE, D., BOUDREAU, D.K., BOISSINOT, M., HULETSKY, A., RICHARD, D., OUELLETTE, M., ROY, P.H. and BERGERON, M.G. 2004. Use

- of tuf sequences for genus-specific PCR detection and phylogenetic analysis of 28 streptococcal species. *J. Clin. Microbiol.* 42, 3686–3695.
- RINTTILÄ, T., KASSINEN, A., MALINEN, E., KROGIUS, L. and PALVA, A. 2004. Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. *J. Appl. Microbiol.* 97, 1166–1177.
 - SURIASIH, K., ARYANTA, W.R., MAHARDIKA, G., and ASTAWA, N.M. 2012. Microbiological and chemical properties of Kefir made of Bali cattle milk. *Food Sci. Qual. Manage.* 6, 12–22.
 - TAKIZAWA, S., KOJIMA, S., TAMURA, S., FUJINAGA, S., BENNO, Y. and NAKASE, T. 1998. The composition of the lactobacillus flora in kefir grains. *Syst. Appl. Microbiol.* 21, 121–127.
 - TAS, T.K., EKINCI, F.Y. and GUZEL-SEYDIM, Z.B. 2012. Identification of microbial flora in kefir grains produced in Turkey using PCR. *Int. J. Dairy Technol.* 65, 126–131.
 - TOMISLAV, P., SANJA, S., ŠIMUN, Z. and DUBRAVKA, S. 2013. Microbiota of kefir grains. *Mljekarstvo* 63, 3–14.
 - VASILEAN, I., SEGAL, R. and VASILE, A. 2011. Obtaining fermented dairy products with the yogurt culture YF-L 812. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technology* 35, 92–99.
 - WALTER, J., HERTEL, C., TANNOCK, G.W., LIS, C.M., MUNRO, K. and HAMMES, W.P. 2001. Detection of *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, and *Weissella* species in human feces by using group-specific PCR primers and denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2578–2585.
 - WITTHUHN, R.C., SCHOEMAN, T. and BRITZ, T.J. 2004. Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains. *Int. J. Dairy Technol.* 57, 1–8.
 - WOUTERS, J.T.M., AYAD, E.H.E., HUGENHOLTZ, J. and SMIT, G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. Dairy J.* 12, 91–109.
 - WYDER, M.T. 1998. Identification and characterization of the yeast flora in kefir and smear ripened cheese: Contribution of selected yeast to cheese ripening. PhD thesis, ETH, Zurich, Switzerland.

- WYDER, M.T., BACHMANN, H.P. and PUHAN, Z. 1999. Role of selected yeasts in cheese ripening: an evaluation in foil wrapped Raclette cheese. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 32, 333-43.
- ZOTT, K., CLAISSE, O., LUCAS, P., COULON, J., LONVAUD-FUNEL, A, and MASNEUF-POMAREDE, I. 2010. Characterization of the yeast ecosystem in grape must and wine using real-time PCR. *Food Microbiol.* 27, 559-67.
- Guzel-Seydim ZB, Kok-Tas T, Greene AK, Seydim AC. Review: Functional properties of kefir. *Crit. Rev. Food Sci.* 51: 261-268 (2011)
- Farnworth ER, Mainville L. Kefir: a fermented milk product. pp. 77-112. In: *Handbook of Fermented Functional Foods*. Farnworth ER (eds.). CRC Press, Boca Raton, FL, USA (2003)
- Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu. Rev. Nutr.* 22: 283-307 (2002)
- Riesenfeld CS, Schloss PD, Handelsman J. Metagenomics. Genomic analysis of microbial communities. *Annu. Rev. Genet.* 38: 525-552 (2004)
- Marquina D, Santos A, Corpas L, Munoz J, Zazo J, Peinado JM. Dietary influence of kefir on microbial activities in the mouse bowel. *Lett. Appl. Microbiol.* 35: 136-140 (2002)
- Yaman H, Ulukanli Z, Elmali M, Unal Y. The effect of a fermented probiotic, the kefir, on intestinal flora of poultry domesticated geese (*Anser anser*). *Rev. Med. Vet.-Toulouse* 157: 379-386 (2006)
- KIPRIS(Korean Intellectual Property Rights Information Service),www.kipris.or.kr/khome/main.jsp
- 링크아즈텍(LinkAztec Marketing Information Service), www.linkaztec.com
- Grand View Research, Market Research & Consulting, Probiotics Market Analysis By Application, By End Use And Segment Forecasts To 2020, 2014
- BCC research, The Probiotics Market: Ingredient, Supplements, Foods, 2013
- Xu J, Mahowald MA, Ley RE, Lozupone CA, Hamady M, Martens EC, Henrissat B, Coutinho PM, Minx P, Latreille P, Cordum H, Van Brunt A, Kim K, Fulton RS, Fulton LA, Clifton SW, Wilson RK, Knight RD, Gordon JI. Evolution of symbiotic bacteria in the distal human intestine. *PLoS Biol.* 5: e156 (2007)

- Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host–bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 307: 1915–1920 (2005)
- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 308: 1635–1638 (2005)
- Lay C, Doré J, Rigottier–Gois L. Separation of bacteria of the *Clostridium leptum* subgroup from the human colonic microbiota by fluorescence–activated cell sorting or groupspecific PCR using 16S rRNA gene oligonucleotides. *FEMS Microbiol. Ecol.* 60: 513–520 (2007)
- Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimarães VD, Sokol H, Doré J, Corthier G, Furet JP. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol.* 9: 123–128 (2009)
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity–associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444: 1027–1031 (2006)
- Harris K, Kassis A, Major G, Chou CJ. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? *J. Obes.* 2012: 879151 (2012)
- Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FWJ, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, Al–Soud WA, Sørensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non–diabetic adults. *PLoS ONE* 5: e9085 (2010)
- Lupp C, Robertson ML, Wickham ME, Sekirov L, Champion OL, Gaynor EC, Finlay BB. Host–mediated inflammation disrupts the intestinal microbiota and promotes the overgrowth of Enterobacteriaceae. *Cell Host Microbe* 2: 119–129 (2007)
- L.L Rudel, M.D Morris. Determination of cholesterol using o–phthalaldehyde. Determination of cholesterol using o–phthalaldehyde. *J. Lipid Res.*, 14 (1973), p. 364
- Lifeway Kefir, <"www.lifewaykefir.com">
- Kefirin Gerçek Adresi – Doğal Kefir ve Kefir Mayası, <"www.kefirdanem.com">
- Liberté | Artisan de nature, Healthy and Gourmet Dairy products, <"www.liberte.ca/en">

- CODEX Alimentarius: Home, <"www.codexalimentarius.org">
- CODEX fermented milk standards, CODEX STAN 243-2003, <"http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-of-standards/en">
- Kefir – Wikipedia, the free encyclopedia, <"https://en.wikipedia.org/wiki/Kefir">
- Kim DH, Chon JW, Kim H, Kim HS, Choi DS, Hwang DG, Seo KH. Detection and enumeration of lactic acid bacteria, acetic acid bacteria and yeast in kefir grain and milk using quantitative real-time PCR. *J. Food Safety* 35: 102-107 (2015)
- Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology* 148: 257-266 (2002)
- Guo X, Xia X, Tang R, Zhou J, Zhao H, Wang K. Development of a real-time PCR method for Firmicutes and Bacteroidetes in faeces and its application to quantify intestinal population of obese and lean pigs. *Lett. Appl. Microbiol.* 47: 367-373 (2008)
- Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT, McMurdo MET. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. *Appl. Environ. Microb.* 70: 3575-3581 (2004)
- Matsuda K, Tsuji H, Asahara T, Kado Y, Nomoto K. Sensitive quantitative detection of commensal bacteria by rRNA targeted reverse transcription-PCR. *Appl. Environ. Microb.* 73: 32-39 (2007)
- Heilig HGHJ, Zoetendal EG, Vaughan EE, Marteau P, Akkermans ADL, de Vos WM. Molecular diversity of *Lactobacillus* spp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Appl. Environ. Microb.* 68: 114-123 (2002)

[첨부서류]

특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서

신청과제명	캐피어 발효유(티벳버섯 발효유)의 대사성 지방간병 예방 기능성 규명 및 신규 제품 3종 개발을 통한 고부가가치화		
주관연구책임자	서번호	주관기관	(주)센서젠

1. 본 연구관련 국내외 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
캐피어 발효유 대량생산 기술	미국	20%	50%	80%	-

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) 현재 기술수준은 선진국 100% 대비 우리나라 및 신청한 연구팀의 기술수준 표시
- 3) 기술개발 목표수준은 당해과제 완료 후 선진국 100% 대비 목표수준 제시
- 4) 부가설명이 필요한 경우 비교란에 작성

2. 특허분석

가. 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목 및 초록

나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	캐피어 대량생산 기술	
Keyword	캐피어, 대량생산	
검색건수	23	
유효특허건수	2	
핵심특허 및 관련성	특허명	혼합발효방식을 이용하여 제조된 변비 개선용 요구르트 및 이의 제조방법
	보유국	대한민국
	등록년도	2014
	관련성(%)	50%
	유사점	유산균과 효모를 이용한 복합발효 유산균 음료 생산법
	차이점	대량생산기법이 아니며, 캐피어 핵심 미생물이 스타터가 아님

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총 검색건수를, 유효특허건수는 검색한 특허 중 핵심(세부)개발기술과 관련성이 있는 특허를 의미
- 3) 핵심특허는 개발기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 특허를 기준으로 분석

3. 논문분석

가. 논문분석 범위

대상국가	미국, 일본, 유럽 등 전 세계 국가
논문 DB	Web of Science DB
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목 및 키워드

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		케피어 품질관리	케피어 대량생산
Keyword		Kefir quality	Kefir large-scale production
검색건수		79	44
유효논문건수		6	2
핵심논문 및 관련성	논문명	How kefir fermentation can affect product composition?	Kefir: A Fermented Milk Product
	학술지명	Small Ruminant Research	Fermented Functional Foods
	저자	Gulcin Satira, Zeynep B. Guzel-Seydim	Edward R. Farnworth and Isabelle Mainville
	게재년도	2016	2003
	관련성(%)	50%	30%
	유사점	발효 조건과 케피어 품질의 상관관계 연구	케피어 발효 방식들에 대해서 나열
	차이점	센서젠의 연구는 미생물학적 유효성분에 주목한데 반하여 본 논문은 화학적 성분에 주목함	리뷰논문으로, 실험적인 데이터가 제시되어 있지 않고 상업적인 케피어 생산은 케피어 그레이인이 아니라 개별균주스타터의 혼합으로 만들어지고 있음을 제시

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총검색건수를, 유효논문건수는 검색한 논문 중 핵심(세부)개발기술과 관련성이 있는 논문을 의미
- 3) 핵심논문은 개발기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 논문을 기준으로 분석

4. 제품 및 시장 분석

가. 생산 및 시장현황

1) 국내 제품생산 및 시장 현황

A. 국내 제품

- 티벳버섯 발효유와 관련된 제품이 판매되고 있는 사례는 타 발효유제품에 비하여 극소수임
- 현장 판매는 거의 이루어지지 않고 있으며, 대부분 인터넷으로 주문 판매되고 있음
- 액상으로 판매되는 케피어S(네이처런스), 케피어플레인(네이처런스), 동결건조분말 형태로 판매되는 케피어분말(요거메트)가 있음
- 2010-2012년 (주)더멋진바이오텍 이라는 회사에서는 액상 형태의 ‘헤븐스 케피어’ 및 파우치 형태의 ‘코카시안케피어’라는 제품을 판매하였으나 현재는 절판되었음

제품명(제조사)	케피어S (네이처런스)	케피어플레인(네이처런스)	케피어분말 (요거메트)
제품이미지			 요거메트 요거트 만들기 케피어 중균(티벳버섯분말)
성상	액상발효유	액상발효유	동결건조분말
가격	140ml 한 병당 1,200원	1000ml 한 병당 8,000원	한 포당 5g, 1700원
판매경로	인터넷 주문 판매	인터넷 주문판매	인터넷 주문 판매

B. 국내 시장 현황

- 2014년 기준, 국내 발효유 연 소비량은 573천톤으로 유제품 중 시유 다음으로 많이 소비되고 있음
- 시유의 경우 잉여원유 해소를 위해 유업체가 실시한 유제품 할인행사, 신제품 출시, 제품리뉴얼 등 소비촉진 노력에도 불구하고, 국내 경기침체와 대체음료 수요 증가, Anti-Milk 등으로 유제품 시장 전반적인 소비가 위축되고 있음
- 하지만, 이러한 추세에도 불구하고 건강기능식품에 대한 관심 증가에 따라서 발효유 소비는 꾸준히 상승세에 있음



<최근 3년 국내 유제품 소비량 추이 - 농촌진흥청>

2) 국외 제품생산 및 시장 현황

A. 국외 제품

○ 미국, 캐나다, 터키 등 국외에서는 케피어 발효유와 관련된 제품이 활발하게 판매되고 있음

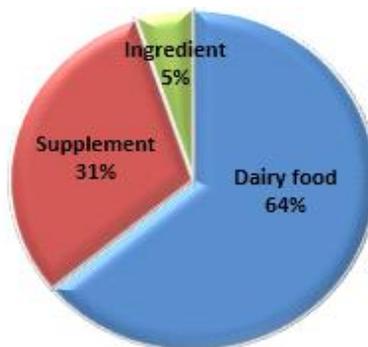
제품명 (제조사 및 제조국)	Kefir (Lifeway, 미국)	Plain 2% (LIBERTE)	Kefirzadem (danem, 터키)
제품이미지			
성상	액상 티벳버섯 발효유	액상 발효유	액상발효유
판매경로	편의점 등 마트에서 쉽게 구매가능 인터넷 주문도 가능	편의점 및 마트 인터넷 판매도 가능	마트에서 구매 가능, 250ml 한 병당 1.75TL (710원)

B. 국외 시장 현황

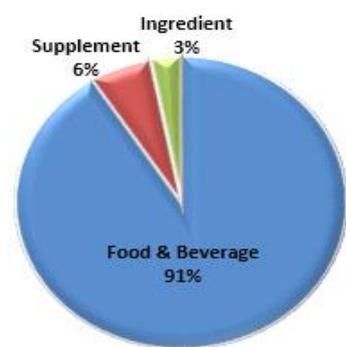
- 글로벌 프로바이오틱스 시장 규모 또한 2014년 기준 35조로 추정되며, 연 평균 7.6% 성장률을 보이고 있어 2020년에는 57조로 성장할 것으로 전망되어짐
- 국외 분야별 시장 규모를 보면 아시아는 Dairy food(유제품)이 64%, 전세계적으로도 Food & Beverage(식품 및 음료) 91%로, 일반식품으로써의 프로바이오틱스 시장이 가장 활발한 것으로 조사됨(BCC Research, 2013)



<글로벌 프로바이오틱스 시장 전망 - 그랜드 뷰 리서치>



<프로바이오틱스 분야별 시장규모(아시아) - BCC Research, 2013>



<프로바이오틱스 분야별 시장규모(전세계) - BCC Research, 2013>

나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

1) 산업화 방향

○ 본 연구 결과, 아래와 같은 3가지 시제품을 개발하였음

오리지널 커피어 발효유	블루베리 커피어 발효유	동결건조 커피어 그레인
		
<p>오리지널 커피어 발효유는 50종 이상의 유산균-효모-초산균을 함유하고 있는 천연 복합 프로바이오틱스 제품이다. 개발된 제품을 3주 이상 꾸준히 섭취하는 경우 장내세균총의 개선(유익균총 증가 및 유해균총 감소) 및 대사성 지방간병 예방효과를 볼 수 있다.</p>	<p>오리지널 티벳버섯 발효유에 항산화 기능이 뛰어나다고 알려진 블루베리를 첨가하여 풍미를 개선한 제품으로, 어린이 등 천연 발효유의 풍미에 익숙치 않은 소비자를 위한 제품이다.</p>	<p>집에서 직접 커피어 발효유를 제조해 먹고자 하는 소비자층을 위한 제품으로, 보관이 용이하고 유통기간이 매우 길며 한번 구매하면 영구적으로 사용이 가능한 발효 스타터 제품이다.</p>

2) 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 백만원)

항 목	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과	5	10	10	20	20	65
경제적 파급효과	5	10	10	20	20	65
부가가치 창출액	5	10	10	20	20	65
합 계	15	30	30	60	60	195

- 1) 직접 경제효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 제품의 매출액 추정치
- 2) 경제적 파급효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통한 농가소득효과, 비용절감효과 등 추정치
- 3) 부가가치 창출액 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 수출효과, 브랜드가치 등 추정치

5. 3P(특허,논문,제품)분석을 통한 연구 방향 설정

가. 분석 결과를 바탕으로 한 연구 전략 (특허, 논문, 제품 측면에서 연구방향 제시)

1) 특허분석 측면

- 기존 특허는 케피어와 같은 복합발효유가 아닌 단일 균주 발효유의 생산방법, 혹은 생산 시 첨가제에 따른 안정화 효과 등에 대한 기술 개발에 치중되어 있음.
- 따라서, 본 연구과제에서는 복합 발효유의 대량생산, 품질향상 및 관리 방향으로 연구를 추진하여 “케피어 발효유의 대량생산 방법” 특허를 국내출원 하였음

2) 논문분석 측면

- 기존 논문은 케피어의 화학적 조성 분석, 품질관리, 케피어 유래 개별 유산균의 기능성 등의 분야에 치중되어 있음
- 따라서, 본 연구과제에서는 케피어의 품질관리 기술 및 케피어 발효유의 건강기능성을 중점적으로 연구를 추진하여 “Modulation of intestinal microbiota in mice by kefir administration” 논문을 Food Science and Biotechnology (SCIE) 학술지에 게재하였음

3) 제품 및 시장분석 측면

- 국내 및 국외시장 분석결과 케피어 분말제품, 케피어 발효유 등의 생산 및 인터넷 판매가 이루어지고 있으나, 건강기능성이 밝혀지지 않았으며, 국내 발효유 기준에는 부합하나 Codex 국제 규격기준의 케피어 항목에 부합하는 제품이라고 보기 어려움
- 따라서, 본 연구과제에서는 국제 규격에 적합하면서 대사성 지방간 예방 기능이 우수한 케피어 발효유를 개발하는 방향으로 연구를 추진하여 오리지널 케피어 발효유, 블루베리 케피어 발효유, 동결건조 케피어 그레인 제품 등을 생산 및 판매할 계획임

본문 작성 요령

- 가. 본문의 순서는 장, 절, 1, 가, (1), (가), ①, ㉠ 등으로 하고, 장은 17 포인트 고딕계열, 절은 15포인트 명조계열, 본문은 11 포인트 명조계열로 합니다. 다만, 본문의 내용 중 중요부문은 고딕계열을 사용할 수 있습니다.
- 나. 장은 원칙적으로 페이지를 바꾸어 시작합니다.
- 다. 본문은 11 포인트 횡으로 작성합니다.
- 라. 쪽 번호는 하단 중앙에 표기하되, 11 포인트로 합니다.
- 마. 각주는 해당 쪽 하단에 8포인트로 표기하며, 본문과 구분하도록 합니다.
- 바. 쪽 수는 편집순서 2의 제출문부터 시작합니다. 이 경우 삽입물이 있을 때에는 그 삽입물의 크기에 관계없이 1면을 한 쪽으로 하여 일련번호를 붙입니다.
- 사. 한글·한문·영문을 혼용합니다.
- 아. 뒷면지에 주의문을 넣습니다.
- 자. 참고문헌(reference) 인용의 경우 본문 중에 사용처를 반드시 표시하여야 합니다.
- 차. <첨부>자료는 협약 시 연구계획서 별첨으로 제출한 특허, 논문 및 시장분석보고서를 기준으로 연구 완료 후 변동 내용을 작성하시기 바랍니다.

※ 보고서 겉표지 뒷면 하단에 다음 문구 삽입

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.