

(56) 선행기술조사문헌

케피어 (kefir : 티벳버섯, 하얀버섯) = 유산균 + 효모. 네이버 블로그. 2011.02.25., [2021.10.28. 검색], 인터넷: <URL:

<https://blog.naver.com/uryagi/140124570933>>

Wang et al., Chemical, Physiochemical, and Microstructural Properties, and Probiotic Survivability of Fermented Goat Milk Using

Polymerized Whey Protein and Starter Culture Kefir Mild 01. Journal of F

KR1020060085429 A

KR1020170066026 A

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	10156998
부처명	중소벤처기업부
과제관리(전문)기관명	창업진흥원
연구사업명	2018년 창업선도대학 (에비)창업팀 2차 모집
연구과제명	토종유산균 산양유 케피어 생산
기 여 율	1/1
과제수행기관명	아주대학교 창업지원단
연구기간	2018.09.01 ~ 2019.03.01

명세서

청구범위

청구항 1

- (a) 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래 케피란 생산 균주를 각각 선별하는 단계;
- (b) 상기 (a) 단계의 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래 케피란 생산 균주를 혼합하여 복합 유산균을 생산하는 단계; 및
- (c) 상기 (b) 단계의 복합 유산균으로 유제품을 발효시키는 단계;를 포함하는, 신맛이 저감되고 유청 분리 현상이 방지된, 발효 유제품의 제조방법으로서,
- 상기 (a) 단계의 산양유-유래 유산균 선별은 고염 및 혐기배양을 통해 수행하고, 김치-유래 유산균 선별은 혐기 배양을 통해 수행하며;
- 상기 (b) 단계의 복합 유산균은, 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*), 락토바실러스 케피라노팍시엔스(*Lactobacillus kefiranofaciens*), 류코노스톡 슈도메센테로이데스(*Leuconostoc pseudomesenteroides*), 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*), 락토바실러스 부크네리(*Lactobacillus buchneri*) 및 웨이셀라 칸들레리(*Weissella kandleri*)를 포함하는 것인,
- 신맛이 저감되고 유청 분리 현상이 방지된, 발효 유제품의 제조방법.

청구항 2

- 제1항에 있어서,
- 상기 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래 케피란 생산 균주의 혼합 중량비는 20:5:1인 것을 특징으로 하는, 신맛이 저감되고 유청 분리 현상이 방지된, 발효 유제품의 제조방법.

청구항 3

삭제

청구항 4

- 제1항에 있어서,
- (b-1) 상기 (b) 단계이후 복합 유산균을 산양유에 접종 배양하여 락토바실러스 케피라노팍시엔스(*Lactobacillus kefiranofaciens*)에 의한 케피어 그레인(Kefir grain)의 존재를 확인하는 단계를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는, 신맛이 저감되고 유청 분리 현상이 방지된, 발효 유제품의 제조방법.

청구항 5

- 제4항에 있어서,
- 상기 (b-1) 단계의 배양은, 복합 유산균을
- (1) 20℃ 내지 40℃ 온도에서 10 시간 내지 50 시간 혐기 배양하는 단계;
- (2) 형성된 케피어 그레인을 선별하는 단계;
- (3) 상기 형성된 케피어 그레인을 산양유에 접종하고 (1) 및 (2) 단계를 5 내지 100회 반복하여 케피어 그레인을 선별하는 단계; 를 포함하는 것을 특징으로 하는, 신맛이 저감되고 유청 분리 현상이 방지된, 발효 유제품의

제조방법.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 복합 유산균 발효 식품 개발을 위한 신맛이 저감된 복합 유산균의 선발 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 최근 5 년간 과학계는 인체 세포수보다 10 배가 많은 장내미생물(microbiome)의 기능과 중요성을 밝혀냈으며, 인간의 장내 70-80%의 면역세포는 면역에 매우 중요한 역할을 한다. 따라서 현대 과학계는 장내미생물 개선을 통하여 각종 미병과 만성질환을 개선 및 치료하는 것을 현대 의학의 중요한 목표로 설정하고 있다. 이 목표에는 면역력과 관련된 질병을 예방하고 비만, 당뇨, 고혈압, 심혈관계 질환, 및 치매 및 정신질환을 포함하고 있다.

[0004] 특히, 장 건강의 중요성이 부각되며 전 세계적으로 발효 식품 시장이 급격히 성장하고 있다. 콤부차나 케피어는 물론 한국의 대표 발효 식품인 김치, 된장 등이 높은 인기를 모으고 있다.

[0005] 유산균(lactic acid bacteria)은 미생물 중에서 가장 유익한 종류로서 오랜 역사를 두고 발효 유제품을 중심으로 인류의 생활에 직간접적으로 밀접한 관계를 맺고 있다. 유산균(lactic acid bacteria, lactobacillus)은 글루코오스 등 당류를 분해하여 젖산을 생성하는 세균으로 젖산균으로도 불리며, 젖산발효에 의해 생성되는 젖산에 의해서 병원균과 유해세균의 생육이 저지되는 성질이 있어 유제품, 김치류, 양조식품 등의 식품 제조에 이용하고 있다. 또한, 유산균은 포유류의 장내에 서식하여 잠균에 의한 이상발효를 방지하여 정장제(整腸劑)로도 이용되고 있다. 상기 유산균은 그람양성균으로, 통성혐기성 또는 혐기성을 성질을 지니며, 락토바실러스 속과 스트렙토코쿠스 속에 여러 종류가 알려져 있다.

[0006] 산양유는 유산양으로부터 생산된 유즙을 의미하며, 축산물 가공처리법상에 명시되어 있는 '착유한 그대로의 것'인 산양유 원유와, 산양유를 원료로 한 농축유, 분유 등을 환원시킨 환원유를 포함한다. 산양유는 단백질과 지방구의 입자크기가 작게 구성되어 있어 비교적 부드러운 커드를 형성하고 소화흡수가 용이한 특성으로 다른 동물들의 유즙과 비교하여 영양학적으로 높게 평가되고 있다. 그러나, 산양유는 부티르산에서 카푸르산에 이르는 저급지방산의 함량 비율이 구성지방산 중 16.0%로 우유의 7.9% 경우 보다 약 2배정도 높은데, 이러한 저급지방산들과 특히, 카프틸산, 4-메틸옥타노익엑시드(4-methyloctanoic acid), 4-에틸옥타노익엑시드(4-ethyl octanoic acid)등이 산양유 특이취 형성의 주된 원인물질로 알려져 있다. 때문에 관능적으로 좋은 평가를 받지 못하여 제품판매에 어려움을 겪고 있으며, 이는 산양유 산업 발전에 가장 큰 문제점으로 지적되고 있다.

[0007] 김치는 유산균에 의하여 발효되는 한국 전통 식품으로, 김치에서 분류된 유산균으로는 류코노스톡 메센테로이데스(Leuconostoc mesenteroides), 류코노스톡 텍스트라니쿰(Leuconostoc dextranicum), 락토바실러스 브레비스(Lactobacillus brevis), 락토바실러스 플란타룸(Lactobacillus plantarum), 페디오코쿠스 펜토사쿠스(Pediococcus pentosacues) 등이 있다. 그러나, 종래 공개된 김치 유산균은 모두 생균제(Probiotics)에 관한

것으로서, 식품으로 섭취 시 장내 환경에서 생균수가 급격히 감소할 뿐만 아니라, 장내에서 흡수가 이뤄지지 않아 고유한 효과가 떨어지는 문제점을 갖고 있으며, 일정 부피의 배양액 내에서 생육할 수 있는 균주가 제한되어 있어, 1일 섭취량이 제한된다는 문제가 있었다.

[0008] 케피어(kefir)는 우유에 유산균과 효모의 복합체가 자라면서 발효된 제품으로 장수마을로 유명한 코카서스 산악 지방에서 유래된 대표적 발효유이다. 균체 복합체가 다당인 케피란(kefiran)에 의해 덩어리(grain)를 형성하기 때문에 일명 티벳버섯으로 잘 알려져 있다. 케피어는 발효시 자연적으로 생성되는 켈리플라워 모양의 케피어 그레인 속에 있는 락토바실러스 케피라노팍시엔스(*lactobacillus kefiranofaciens*)이 만드는 다당류인 케피란(Kefiran)이 수많은 유산균을 응집하여 유산균 유기복합체를 이룬다. 이러한, 케피란은 항균(antimicrobial), 항산화(antioxidant), 항염증(anti-inflammatory), 항암(anticancer) 작용을 하는 것으로 보고되고 있다(4. Rosa DD, Dias MMS, Grze?kowiak £M, Reis SA, Concei ęo LL, Peluzio MDCG. (2017) Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. Nutr Res Rev. 2017 Jun;30(1):82-96). 또한, 케피어는 인체에 유익한 유산균을 포함하고 있어 성장작용을 도와 변비를 억제하고 위장장애를 개선하는 데 크게 도움이 된다. 케피어는 가정에서 케피어 그레인과 우유를 이용하여 개별적으로 배양, 섭취하는 사례가 많았다.

[0009] 그러나, 이러한 경우 다른 균체의 오염으로 인한 위생상의 문제나 온도 및 시간 등 발효 조건의 변화에 따른 제품의 상태가 변하는 문제점이 있다. 또한, 대부분 매일 매일 배양하여 사용하고, 그 규모에서도 소규모의 배양 시스템을 이용함으로써, 배양작업이 번거롭고, 배양과정에서의 오염 및 변질을 확인할 수 없으며, 생균수, 맛, 유효성분을 장기간 동일하게 유지할 수 없었다. 국내외 많은 대학과 산업체에서 최근 케피어에 대한 연구가 진행 되고 있으나 대개 12종의 제한된 균주를 대상으로 하고 있을 뿐이다. 장내에는 대략 1,000 종과 7,000-36,000 품종의 박테리아가 존재하는 것으로 추정되고 있어서 실제 건강과 치료효과는 미미한 실정이다.

[0010] 또한, 이러한 케피어의 유산균주의 특징은 프로바이오틱스의 역할을 강화하며, 건강한 유산균이 현대인의 장 건강과 면역력에 중요한 요인으로 작용하지만 전통 방식으로 생산된 케피어는 약 10~20%의 야생 효모를 가지고 있어, 농도는 낮지만(0.1-1.0%) 알코올을 생산하는 문제점이 있다.

[0011] 일반적으로 유산균 제품의 경우 유산균의 생균수를 높게 유지하는 방법이 매우 중요하다. 발효된 액상 요구르트 제품의 경우 낮은 pH 영역(4~4.5)으로서, 시간이 경과함에 따라 생균수가 급격히 줄어들기 때문에 제한된 시간 내에 섭취해야 하는 단점이 있다.

[0012] 따라서, 장내 환경 개선 효과 및 풍미가 개선된 복합유산균 발효 식품 개발을 위하여, 유산균 생균수를 장기간 고농도로 유지할 수 있는 복합 유산균 균주를 제공하는 것이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명자들은 다양한 원료로부터 유래된 유산균의 생균수를 장기간 고농도로 유지할 수 있는 복합 유산균 균주를 제작하는 방법을 개발하고자 예의 노력하였다. 그 결과, 본 발명자들은, 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균, 및 케피어(Kefir)-유래 유산균을 혼합하여 총 65 종의 유산균이 포함된 복합체, 즉, 복합 유산균 균주를 선발하였고, 이를 이용하여 케피어를 제조했을 때 이들간 상호작용에 의해 특유의 이취를 상쇄시키거나 제거시켜 풍미를 개선시켰을 뿐만 아니라, 커드의 안전성이 뛰어나며, 혐기적 발효를 반복함으로써 효모가 배제되어 알코올 발효가 일어나지 않으며, 젖산 발효가 주 발효가 되고 초산 발효가 되지 않아 부드러운 신맛을 나타낸다는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0015] 따라서, 본 발명의 일 목적은 복합 유산균의 선발 방법을 제공하는 데 있다.

[0016] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 복합 유산균을 발효시키는 단계를 포함하는 발효식품을 제조하는 방법을 제공하는 데 있다.

[0017] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 방법에 따라 제조된 발효식품을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0019] 이하, 본 발명에 대하여 보다 상세히 설명한다.

[0021] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래 케피란 생산 균주를 각각 선발하는 단계; 및 (b) 상기 (a) 단계의 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래

케피란 생산 균주를 혼합하는 단계; 를 포함하는 복합 유산균의 선발 방법을 제공한다.

- [0022] 본 발명의 선발방법에 의하면, 선별된 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래 케피란 생산 균주를 혼합하여 복합 유산균을 제조할 수 있다. 따라서 본 발명은 (a) 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래 케피란 생산 균주를 각각 선별하는 단계; 및 (b) 상기 (a) 단계의 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래 케피란 생산 균주를 혼합하는 단계; 를 포함하는 복합 유산균의 제조방법을 제공할 수 있다.
- [0023] 본 발명에서, 상기 산양유-유래 유산균, 김치-유래 유산균 및 산양유-유래 케피란 생산 균주의 혼합 비율은 본 발명의 목적을 달성하는 한 제한되지 않으나, 20중량%의 산양유-유래 유산균: 5중량%의 김치-유래 유산균: 1중량%의 산양유-유래 케피란 생산 균주인 것이 바람직하다.
- [0024] 상기 (a) 단계의 산양유-유래 유산균 선별은 고염 및 혐기배양을 통해 수행하고; 김치-유래 유산균 선별은 혐기 배양을 통해 수행하는 것이 바람직하다.
- [0025] 또한, 바람직하게는, 본 발명의 상기 (b) 단계의 혼합 균주를 산양유에 접종 배양하여 락토바실러스 케피라노팍시엔스(*Lactobacillus kefiranofaciens*)에 의한 케피어 그레인(Kefir grain)의 존재를 확인하는 (c) 단계를 추가적으로 포함한다.
- [0026] 본 발명의 일 실시예에서, 보다 구체적으로, 상기 (c) 단계의 배양은, 혼합 균주를 (c-1) 20℃ 내지 40℃ 온도 (바람직하게는, 30℃)에서 10 시간 내지 50 시간(바람직하게는, 24시간) 혐기 배양하는 단계;
- [0027] (c-2) 형성된 케피어 그레인을 선별하는 단계;
- [0028] (c-3) 상기 형성된 케피어 그레인을 산양유에 접종하고 (c-1) 및 (c-2) 단계를 내지 5 내지 100회(바람직하게는, 50회) 반복하여 케피어 그레인을 선별하는 단계; 를 포함한다.
- [0029] 본 발명에서 사용되는 “복합 유산균” 또는 “유산균 복합체”는 식용으로 이용가능한 산양유, 김치, 치즈, 요거트 등의 발효 식품에서 일반적으로 존재하는 유산균으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 종 이상의 혼합균체일 수 있다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 복합 유산균은 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속, 류코노스톡(*Leuconostoc*) 속, 락토코커스(*Lactococcus*) 속, 및 웨이셀라(*Weissella*) 속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 혼합균체로서 케피어 그레인을 형성하여 혼합되어 있는 혼합균체일 수 있다.
- [0031] 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 복합 유산균(유산균 복합체)의 메타게놈 데이터를 분석한 결과, 다양한 유산균 종(Species)(*Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus buchneri*, *Weissella kandleri*, *Hafnia alvei*, *Pseudomonas putida*, *Lactobacillus_uc*, *Hafniaceae_uc*, *Ewingella americana*, *Acetobacter malorum*, *Leuconostoc gelidum*, *Lactobacillus parakefiri*, *Enterobacterales_uc*, *Ralstonia_uc*, *Lactococcus_uc*, *Erwinia persicina*, *Pseudomonas synxantha*, *Weissella_uc*, *Lactobacillaceae_uc*, *Streptococcaceae_uc*, *Leuconostoc carnosum*, *Pseudomonas marginalis*, *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc_uc*, *Weissella diestrammenae*, *Pseudomonas fulva*, *Yersinia massiliensis*, *Acinetobacter pittii*, *Brevundimonas bullata*, *Lactobacillus jensenii*, *Acinetobacter radioresistens*, *Lactobacillus coryniformis*, *Macrococcus equipercicus*, *Pseudomonas helleri*, *Pseudomonas tolaasii*, *PAC002482_g EF603735_s*, *Pseudomonas_uc*, *Akkermansia muciniphila*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Buttiauxella gaviniae*, *Hafnia paralvei*, *Lactobacillus amylolyticus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Leuconostoc lactis*, *Paraburkholderia caledonica*, *Ralstonia insidiosa*, *Ralstonia pickettii*, *Ralstonia solanacearum*, *Raoultella planticola*, *PAC000664_g EU504374_s*, *PAC001074_g PAC001074_s*, *Oscillibacter PAC001188_s*, *Roseburia PAC001271_s*, *PAC001372_g PAC001372_s*, *PAC000664_g PAC001488_s*, *KE159538_g PAC001696_s*, *Bacteroides PAC002443_s*, *Hafnia_uc*, *Moraxella_uc* 및 *GQ387490_g_uc*)에 속하는 균주들이 확인되었고, 바람직하게는, 본 발명의 복합 유산균은 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*), 락토바실러스 케피라노팍시엔스(*Lactobacillus kefiranofaciens*), 류코노스톡 슈도메센테로이데스(*Leuconostoc pseudomesenteroides*), 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*), 락토바실러스 부크네리(*Lactobacillus buchneri*) 및 웨이셀라 칸들레리(*Weissella kandleri*)이다.

- [0032] 특히, 이러한 본 발명의 방법에 따라 선발된 본 발명의 상기 복합 유산균에는 효모가 포함되지 않은 것을 특징으로 하며, 비알코올 발효를 통해 제조되어 풍미(특히, 신맛)가 개선될 뿐만 아니라, 안정제를 첨가하지 않으면서, 유청분리 현상이 일어나지 않으며, 점도가 높아 소비자의 기호도에 맞는, 영양학적으로 우수한 복합 유산균을 제공한다.
- [0033] 또한, 본 발명에 따른 복합 유산균은 65가지 종류의 균주를 사용하는 복합 발효 방식을 이용함으로써, 케피어 단일균을 이용하는 경우에 비하여 질감과 풍미를 개선시킬 수 있는 최적의 조건을 확립하였으므로 산업상 효용 가치가 매우 높다.
- [0035] 또한, 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 복합 유산균을 발효시키는 단계를 포함하는 발효식품을 제조하는 방법 및 상기 방법에 따라 제조된 발효 식품을 제공한다.
- [0036] 바람직하게는, 상기 발효 식품은 발효 유제품이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0037] 본 발명에서 상기 복합 유산균을 발효시키는 단계에 의해 수득되는 “복합 유산균 발효물”은 복합 유산균을 접종하여 발효한 후 물리적, 화학적인 방법을 통하여 유산균을 과쇄하여 제조되는 발효 추출물일 수 있다.
- [0038] 본 발명은 잡균에 의한 이상발효를 방지하고 유산균에 의한 정상발효를 위하여 발효공정에 투입되는 원료혼합물은 살균하는 과정을 포함하고 있으며, 원료성분들은 건조 및 분쇄과정에서 살균되지만, 발효공정 전에 원료혼합물을 100 내지 120℃에서 20분 정도 가열처리하여 살균하는 것으로 이루어진다.
- [0039] 본 발명의 발효 조건은 20℃ 내지 40℃ 온도에서 10 시간 내지 50 시간 혐기 배양 발효시키는 것이고, 바람직하게는, 30℃에서 24 시간 혐기 배양 발효시키는 것으로 이루어진다.
- [0040] 본 발명에서 '식품'이라 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함한다.
- [0041] 본 발명의 식품은, 식품학적으로 허용 가능한 식품보조첨가제를 더 포함할 수도 있으며, 환제, 분말, 과립, 칩제, 정제, 캡슐 또는 음료 형태로 제제화될 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 조성물은, 건강보조식품의 식품보조첨가제로서 사용될 수 있다. 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있으며, 환제, 분말, 과립, 칩제, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.
- [0043] 식품 또는 음료 중의 상기 복합 유산균 발효물은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.
- [0044] 상기 음료 조성물의 경우, 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물 이외 함유하는 액체 성분에는 특별한 제한점은 없으며, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 예를 들어, 포도당, 과당 등의 모노사카라이드 예를 들어, 말토오스, 수크로오스 등의 디사카라이드 예를 들어, 텍스트린, 사이클로 텍스트린 등의 폴리사카라이드 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.
- [0045] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드중점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.
- [0046] 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.001 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0047] 또한, 본 발명은 상기 복합 유산균을 발효시키는 단계를 포함하는 화장료 조성물을 제조하는 방법 및 상기 방법에 따라 제조된 화장료 조성물을 제공할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서의 상기 복합 유산균 발효물 이외에 화장품 조성물

에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 또는 담체를 포함한다.

- [0049] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수(스킨), 영양 화장수(밀크로션), 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 진분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0051] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0052] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0053] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록사이드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0054] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0055] 또한, 본 발명은 상기 복합 유산균을 발효시키는 단계를 포함하는 동물 사료용 첨가제를 제조하는 방법 및 상기 방법에 따라 제조된 동물 사료용 첨가제를 제공할 수 있다.
- [0056] 본 발명의 상기 사료 첨가제는 상술한 본 발명의 복합 유산균을 발효시켜 수득한 복합 유산균 발효물을 유효성분으로 포함하여, 안전하므로 이를 사료 첨가제로 사용할 경우 대상 가축의 건강 증강에 기여할 수 있다.
- [0057] 본 발명의 상기 사료 첨가제는 본 발명의 복합 유산균 발효물 원형 그대로 사용하거나 또는 추가적으로 가축에 허용되는 곡류 및 그 부산물 등의 공지된 담체, 안정제 등을 가할 수 있으며, 필요에 따라 구연산, 후발산, 아디픽산, 젖산, 사과산 등의 유기산이나 인산나트륨, 인산칼륨, 산성 피로인산염, 폴리인산염(중합인산염) 등의 인산염이나, 폴리페놀, 카테킨, 알파-토코페롤, 로즈마리 추출물, 비타민 C, 녹차 추출물, 감초 추출물, 키토산, 탄닌산, 피틴산 등의 천연 항산화제, 항생물질, 향균제 및 기타의 첨가제 등을 가할 수도 있으며, 그 형상으로서서는 분체, 과립, 펠릿, 현탁액 등의 적당한 상태일 수 있으며, 상기 사료 첨가제를 공급하는 경우는 가축 등에 대하여 단독으로 또는 사료에 혼합하여 공급할 수 있다.
- [0058] 본 발명의 사료 첨가제는 상술한 본 발명의 복합 유산균 발효물을 포함하므로, 중복된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재 생략한다.

발명의 효과

- [0060] 본 발명의 방법에 따라 제작된 복합 유산균은, 이들간 상호작용에 의해 케피어 그레인 형성이 안정적이며, 관능 검사시 기존 요구르트와 상이하거나 우수하게 평가되었고, 커드의 안전성이 뛰어나며 발효 후 유청분리가 잘되지 않으며, 혐기적 발효를 반복함으로 효모가 배제되어 알코올 발효가 일어나지 않았고, 젖산 발효가 주 발효가 되고 초산발효가 되지 않아 부드러운 신맛을 주며 다양한 식품에 편리하게 적용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0062] 도 1은 본 발명의 복합 유산균을 분석한 결과를 보여준다.
- 도 2는 본 발명의 복합 유산균에 의한 케피어 배양 결과를 보여준다.
- 도 3은 본 발명의 복합 유산균 케피어 커드의 안정성 결과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0063] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0065] 실시예 1. 산양유 유래 토종 유산균 선발

[0066] 본 발명자들은 산양유-유래 토종 유산균을 선발하였다.

[0067] 간략하게는, 청정지역에서 방목하여 키운 건강한 산양에서 착유한 비살균 유기농 산양유 100 ml에 천연소금을 첨가하여 소금농도를 12.0%가 되도록 하였다. 이것을 25℃에서 6시간동안 혐기배양하였다. 배양된 산양유는 2,700g로 10분간 원심분리하였고 침전물은 다시 멸균된 소금농도 12% 산양유 200ml를 첨가하여 25℃에서 6시간 동안 혐기 배양하였다. 다시 배양된 산양유는 2,700g로 10분간 원심분리하였고 침전물은 멸균 산양유 10 ml에 희석하여 고염도에서 생존한 유산균을 선별하였다.

[0068] 그 결과, 상기 선별된 유산균은 내염성이 강한 할로트로픽(Halotropic) 균주이며, 병원균과 유해미생물은 삼투압 작용으로 모두 소멸되었다.

[0069] 또한, 본 발명자들은 상기 선별된 산양유-유래 토종 유산균 균주 5 ml을 살균 산양유 100ml에 접종하여 25℃에서 24시간 동안 혐기 배양하였다. 이것을 4℃에 저장하여 토종 산양 유산균 균주로 활용하였다.

[0071] 실시예 2. 유기농 김치유산균 선발

[0072] 본 발명자들은 김치-유래 토종 유산균을 선발하였다.

[0073] 간략하게는, 천연소금으로 유기농 배추를 6시간 절이고, 유기농 김치재료 특히 유기농 고추가루를 사용하여 김치를 담갔다. 김치를 48시간 20℃ 상온에서 혐기 숙성시키고 4℃ 김치 냉장고에 2주일 정도 혐기 발효하여 pH가 3.5가 되게 하여 유산균이 최고 상태가 되도록 발효시키고, 김치 국물 100ml을 2,700g로 10분간 원심분리하였고 침전물은 멸균 산양유 10ml 희석해 사용하였다.

[0074] 또한, 본 발명자들은 상기 선별된 김치-유래 토종 유산균 균주 5ml을 살균 산양유 100ml에 접종하여 25℃에서 24시간 동안 혐기 배양하였다. 이것을 4℃에 저장하여 유기농 김치 유산균 균주로 활용하였다.

[0076] 실시예 3. 케피어 그레인(Kefir grain)에서 케피란 생산 균주 분리

[0077] 본 발명자들은 케피어 그레인(Kefir grain)으로부터 케피란 생산 균주를 분리하였다.

[0078] 간략하게는, 케피어 그레인 10g을 PBS로 5번 세척하고 마지막에 PBS 30ml 용액에서 초음파 분쇄기로 3초간 2번 분쇄하여 2,000g에 5분간 원심분리시켰다. 이후 상온에서 1시간 건조하였다. 분쇄된 케피어 그레인은 플라스틱 시험관에 담아 Dry Ice/Ethyl Alcohol 용기에 급속동결시켰다. 동결된 케피어 그레인은 절구로 잘게 부수었다. 이중 1g을 10ml LB 배지에 희석하고 동 배지에 1/10씩 차례로 연속 희석하여 유당천배지 petri dish에 배양하였다. 디쉬당 20개 이하의 잘 분리된 콜로니에서 멸균 이쑤시개를 이용하여 점도와 실 생성여부를 확인하고 케피란 존재를 확인하였다. 끈적한 점도는 케피란을 의미하며, 이는 락토바실러스 케피라노팍시엔스 (*Lactobacillus kefiranoferiens*)를 함유하고 있음을 의미한다. 락토바실러스 케피라노팍시엔스로 추정되는 균주는 다시 유당천배지에 접종하여 케피란 생성에 의한 점도를 확인하고 이를 한번 더 반복하여 확인하였다.

[0080] 실시예 4. 본 발명의 복합 유산균의 선발(선별 제조)

[0081] 본 발명자들은 실시예 1의 산양유-유래 토종 유산균, 실시예 2의 김치-유래 토종 유산균 및 실시예 3의 케피란 생산 균주를 각각 20중량%:5 중량%:1 중량% 비율로 혼합 후 배양하여 복합 유산균(유산균 복합체)을 제조하였다.

[0082] 상기 혼합 균주 1 ml을 탈가스(degas)한 살균 산양유 100ml에 접종하여 30℃에서 24 시간 혐기 배양하였다. 배양 후 배양액을 0.5mm 나일론 거름망으로 거르고 그 중 그레인 크기가 가장 큰 10 종을 선별하여 다시 탈가스한 살균 산양유 100ml에 접종하여 30℃에서 24 시간 혐기 배양하였다.

[0083] 상기 과정을 50 회 이상 반복하여 락토바실러스 케피라노팍시엔스에 의한 그레인을 선별하여 케피어 및 기타 발효식품의 종균으로 이용하였다.

[0085] 실시예 5. 본 발명의 복합 유산균의 분석

[0086] 본 발명자들은 상기 실시예 4의 유산균 복합체의 메타게놈 데이터를 분석하여 균주들의 분류군(taxon)을 확인하였다.

[0087] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 특정 유산균 종(Species)(*Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus buchneri*, *Weissella kandleri*, *Hafnia alvei*, *Pseudomonas putida*, *Lactobacillus_uc*, *Hafniaceae_uc*, *Ewingella americana*, *Acetobacter malorum*, *Leuconostoc gelidum*, *Lactobacillus parakefiri*, *Enterobacterales_uc*, *Ralstonia_uc*, *Lactococcus_uc*, *Erwinia persicina*, *Pseudomonas synxantha*, *Weissella_uc*, *Lactobacillaceae_uc*, *Streptococcaceae_uc*, *Leuconostoc carnosum*, *Pseudomonas marginalis*, *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc_uc*, *Weissella diestrammenae*, *Pseudomonas fulva*, *Yersinia massiliensis*, *Acinetobacter pittii*, *Brevundimonas bullata*, *Lactobacillus jensenii*, *Acinetobacter radioresistens*, *Lactobacillus coryniformis*, *Macrococcus equiperdus*, *Pseudomonas helleri*, *Pseudomonas tolaasii*, *PAC002482_g EF603735_s*, *Pseudomonas_uc*, *Akkermansia muciniphila*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Buttiauxella gaviniae*, *Hafnia paralvei*, *Lactobacillus amylolyticus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Leuconostoc lactis*, *Paraburkholderia caledonica*, *Ralstonia insidiosa*, *Ralstonia pickettii*, *Ralstonia solanacearum*, *Raoultella planticola*, *PAC000664_g EU504374_s*, *PAC001074_g PAC001074_s*, *Oscillibacter PAC001188_s*, *Roseburia PAC001271_s*, *PAC001372_g PAC001372_s*, *PAC000664_g PAC001488_s*, *KE159538_g PAC001696_s*, *Bacteroides PAC002443_s*, *Hafnia_uc*, *Moraxella_uc* 및 *GQ387490_g_uc*)에 속하는 균주들만이 확인되었고, 이 중 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*), 락토바실러스 케피라노팍시엔스(*Lactobacillus kefiranofaciens*), 류코노스톡 슈도메센테로이데스(*Leuconostoc pseudomesenteroides*), 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*), 락토바실러스 부크네리(*Lactobacillus buchneri*) 및 웨이셀라 칸들레리(*Weissella kandleri*)가 주요한 균주인 것으로 확인되었다.

[0088] 특히, 어떤 종류의 효모도 포함되지 않은 것으로 확인되었다.

[0089] 즉, 본 발명의 복합 유산균은, 효모가 존재하지 않는, 총 65 종의 유산균들이 존재하는 유산균 복합체임을 입증하였다.

[0091] 실시예 6. 본 발명의 복합 유산균 케피어의 분석

[0092] 본 발명자들은 본 발명의 복합 유산균 케피어를 분석하였다.

[0093] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 대조군인 일반 케피어(도 2 왼쪽)에 비해 본 발명의 복합 유산균이 포함된 케피어(도 2 오른쪽)가 그레인이 더 많이 형성된 것을 확인할 수 있다. 따라서, 유산균의 생균수를 장기간 고농도로 유지할 수 있을 것으로 기대된다.

[0094] 또한, 본 발명의 유산균 복합체 케피어는, 균주 배양과 혼합 과정에서 혐기성 발효 후에 매회 균주를 분리하고 선별하는 과정을 50회 이상 반복하는 과정에서 효모가 제거되어 일반 케피어와는 달리 알코올 발효가 일어나지 않았다.

[0096] 본 발명의 유산균 복합체 케피어의 관능 시험은 식품관련 전문가 및 일반 소비자 50명을 대상으로 실시하고, 점수 및 평가기준은 5점 채점법을 이용하였으며, 하기 표 1에 나타내었다. 평가 기준은 1점: 전혀 없음, 2점: 약함, 3점: 보통, 4점: 강함, 5점: 매우 강함으로 측정하였다.

표 1

냄새	대조 케피어	복합균주 케피어	복합균주 케피어 (확대배양)
알코올	2.1	1.1	1.0
관정	약하지만 분명한 알코올 취	미검출	미검출

- [0100] 또한, 상기 실시예 5에서 확인한 바와 같이, 메타 분석에서도 효모 균주는 분리되지 않았으며, 추가적으로 설당을 첨가한 확대 배양에서 알코올 냄새가 생성되지 않았고, 관능 검사에서도 알코올 냄새는 측정되지 않았다.
- [0101] 또한, 본 발명의 유산균 복합체 케피어(복합균주 케피어)는, 도 3에 나타낸 바와 같이, 대조군인 일반 케피어에 비해, 아래 하단부에 본 발명의 유산균 복합체 케피어는 커드가 분리되지 않았을 뿐만 아니라, 전체적으로 균일한 커드를 형성하고 있음을 확인함으로써 커드의 안정성이 증가되었음을 입증하였다.
- [0102] 즉, 유청분리 현상이 방지되었다.
- [0103] 상기 유청분리 현상이란, 소비자의 기호도를 감소시키는 요소 중의 하나로, 유산균이 성장하면서 생산하는 산에 의해 우유내의 단백질(카제인, casein)이 침전되어 커드(curd)라는 응고물이 생성되는데, 이때 형성된 커드 내의 수용액이 유출되어 분리되는 현상을 말한다. 주로, 무지유고형분 함량이 높은 호상발효유 제품에서 주로 발생한다. 이러한 유청분리는 발효유에서 나타날 수 있는 가장 흔한 제품 결점으로서 제품의 표면에 미색의 액체가 존재하게 되는데, 제품의 영양에는 문제가 없으나 외관상 식감이 떨어지게 된다는 문제점이 있다.
- [0104] 이에, 당업계에서는, 이와 같은 문제를 해결하고, 소비자들의 기호성을 높이기 위해서 낮은 농도의 젤라틴, 펙틴, 한천 등의 일반적인 안정제를 사용하고 있는 있으나, 본 발명의 유산균 복합체 케피어는 상술한 바와 같이, 안정제를 추가적으로 필요로 하지 않는다.
- [0106] 또한, 본 발명자들은 본 발명의 복합 유산균 케피어 및 일반 케피어를 각각 24시간 배양 후 12시간 냉장 보관하여, 신맛, 감칠맛 및 점도에 대하여 관능 평가를 실시하였다. 관능 시험은 식품관련 전문가 및 일반 소비자 50명을 대상으로 실시하고, 점수 및 평가기준은 5점 채점법을 이용하였으며, 하기 표 2에 나타내었다. 평가 기준은 1점: 매우약함, 2점: 약함, 3점: 보통, 4점: 강함, 5점: 매우강함으로 측정하였다.

표 2

[0108] 맛	대조 케피어	복합균주 케피어
신맛	3.3	2.6
감칠맛	1.4	3.4
점도	3.1	3.5
관정	약한 신맛 감칠맛 없음 보통 점도	부드러운 신맛 가벼운 감칠맛 점도가 있어 용기에 달라 붙음

- [0110] 그 결과, 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유산균 복합체 케피어가 대조군인 일반 케피어와 비교하여 관능성 면에서 매우 우수함을 알 수 있었다.
- [0112] **실시예 7. 본 발명의 복합 유산균을 이용한 발효 식품의 관능 평가**
- [0113] 본 발명자들은 본 발명의 복합 유산균을 이용하여 발효 식품 중 두유 및 피클을 제조한 후 관능검사를 실시하였다.
- [0115] **7-1. 복합균주 발효 두유 제조**
- [0116] 본 발명자들은 본 발명의 복합 유산균을 이용해 발효 두유를 제조하였고, 제조방법은 다음과 같다:
- [0117] 1) 콩을 불려 두유 제조기로 두유를 만든다.
- [0118] 2) 두유에 복합 유산균 배양액을 5%를 넣고 25℃에서 12 내지 18시간 동안 발효한다.
- [0119] 3) 24시간 냉장 보관한다.
- [0121] 신맛, 감칠맛 및 맛균형/조화에 대하여 관능 평가를 실시하였다. 관능 시험은 식품관련 전문가 및 일반 소비자 50명을 대상으로 실시하고, 점수 및 평가 기준은 5점 채점법을 이용하였으며, 하기 표 3에 나타내었다. 평가 기준은 1점: 매우약함, 2점: 약함, 3점: 보통, 4점: 강함, 5점: 매우강함으로 측정하였다.

표 3

[0123]

맛	복합균주 발효두유
신맛	2.5
감칠맛	2.8
맛 균형/조화	3.3
관정	부드러운 신맛 가벼운 감칠맛 침가물 없는 맛의 조화

[0125] 그 결과, 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 본 발명의 복합균주 발효 두유가 관능성 면에서 매우 우수함을 알 수 있었다.

[0127] 7-2. 복합균주 발효 피클 제조

[0128] 본 발명자들은 본 발명의 복합 유산균을 이용해 발효 피클을 제조하였고, 제조방법은 다음과 같다:

[0129] 1) 당근, 오이, 양파, 파프리카, 마늘을 잘 씻어서 피클 크기로 자른다.

[0130] 2) 소금을 채소 중량의 5% 뿌리고 10-20분 절인다.

[0131] 3) 소독한 피클용 병에 절인 채소를 넣고 피클용 스파이스 1큰술을 넣는다.

[0132] 4) 물 1컵에 소금 1큰술 비율로 배양액을 만들고 여기에 복합 유산균 배양액을 5%를 넣고 피클용 병에 붓는다.

[0133] 5) 20° C에서 5-7일 발효한다.

[0134] 6) 24시간 냉장 보관한다.

[0136] 신맛, 감칠맛 및 단맛에 대하여 관능 평가를 실시하였다. 관능 시험은 식품 관련 전문가 및 일반 소비자 50명을 대상으로 실시하고, 점수 및 평가 기준은 5점 채점법을 이용하였으며, 하기 표 4에 나타내었다. 평가 기준은 1 점: 매우약함, 2점: 약함, 3점: 보통, 4점: 강함, 5점: 매우강함으로 측정하였다.

표 4

[0138]

맛	복합균주 피클
신맛	2.6
감칠맛	3.2
단맛	1.4
관정	부드러운 신맛 가벼운 감칠맛 단맛이 없는 깨끗한 맛

[0140] 그 결과, 상기 표 4에 나타난 바와 같이, 본 발명의 복합균주 발효 피클이 관능성 면에서 매우 우수함을 알 수 있었다.

[0142] 종합적으로, 본 발명자들은 다양한 유산균주들을 혼합함으로써, 총 65 종 이상의 유산균들이 존재하는 유산균 복합체인 복합 유산균을 제작하였다. 또한, 복합 유산균을 이용하여 산양유에서 케피어를 제조한 경우, 종래 케 피어에 비해, 커드의 안전성이 뛰어나며, 혐기적 발효를 반복함으로 효모가 배제되어 알코올 발효가 일어나지 않으며, 젖산 발효가 주 발효가 되고 초산 발효가 되지 않아 부드러운 신맛을 나타낸다는 것을 확인하였다.

[0143] 또한, 본 발명의 복합 유산균은 평균으로 편리성을 주는 다양한 균주를 그레이인으로 묶어서 결합하는 락토바실러스 케피라노팍시엔스 균주를 포함하며, 이 균주에 의해 케피란을 생성한다.

[0144] 따라서, 본 발명의 복합 유산균은 균주 수가 훨씬 다양하고 그레이인에 결합된 다양한 균주를 편리하게 접종할 수 있는 장점이 있으므로, 복합유산균 발효 식품 개발에 유용하게 사용될 수 있다.

도면

도면1

Taxon name	Taxonomy	Count
Lactococcus lactis group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Streptococcaceae: Lactococcus: Lactococcus lactis group	20053
Leuconostoc mesenteroides group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Leuconostoc: Leuconostoc mesenteroides group	5212
Lactobacillus kefirifaciens group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus kefirifaciens group	4059
Leuconostoc pseudomesenteroides group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Leuconostoc: Leuconostoc pseudomesenteroides group	3026
Lactobacillus sakei group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus sakei group	2493
Lactobacillus buchneri group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus buchneri group	721
Weissella kandleri group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Weissella: Weissella kandleri group	514
Hafnia alvei group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Hafniaceae: Hafnia: Hafnia alvei group	237
Pseudomonas putida group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Pseudomonadaceae: Pseudomonas: Pseudomonas putida group	127
Lactobacillus_uc	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus_uc	124
Hafniaceae_uc	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Hafniaceae: Hafniaceae_uc	113
Ewingella americana	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Hafniaceae: Ewingella: Ewingella americana	107
Acetobacter malorum group	Bacteria: Proteobacteria: Alphaproteobacteria: Rhodospirillales: Acetobacteraceae: Acetobacter: Acetobacter malorum group	48
Leuconostoc geldidum group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Leuconostoc: Leuconostoc geldidum group	40
Lactobacillus parakefiri	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus parakefiri	39
Enterobacterales_uc	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Enterobacterales_uc	35
Ralstonia_uc	Bacteria: Proteobacteria: Betaproteobacteria: Burkholderiales: Ralstonia: Ralstonia_uc	28
Lactococcus_uc	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Streptococcaceae: Lactococcus: Lactococcus_uc	24
Erwinia persicina group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Erwiniaceae: Erwinia: Erwinia persicina group	12
Pseudomonas syzyantha group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Pseudomonadaceae: Pseudomonas: Pseudomonas syzyantha group	11
Weissella_uc	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Weissella: Weissella_uc	11
Lactobacillaceae_uc	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillaceae_uc	8
Streptococcaceae_uc	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Streptococcaceae: Streptococcaceae_uc	8
Leuconostoc_camosum	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Leuconostoc: Leuconostoc camosum	7
Pseudomonas marginalis group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Pseudomonadaceae: Pseudomonas: Pseudomonas marginalis group	7
Enterococcus faecalis	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Enterococcaceae: Enterococcus: Enterococcus faecalis	6
Leuconostoc_uc	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Leuconostoc: Leuconostoc_uc	6
Weissella diestrammenae	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Weissella: Weissella diestrammenae	5
Pseudomonas fulva group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Pseudomonadaceae: Pseudomonas: Pseudomonas fulva group	4
Yersinia massiliensis	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Yersiniaceae: Yersinia: Yersinia massiliensis	4
Acinetobacter pittii group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Moraxellaceae: Acinetobacter: Acinetobacter pittii group	3
Brevundimonas bullata group	Bacteria: Proteobacteria: Alphaproteobacteria: Caulobacteriales: Caulobacteraceae: Brevundimonas: Brevundimonas bullata group	3
Lactobacillus jensenii group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus jensenii group	3
Acinetobacter radioresistens	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Moraxellaceae: Acinetobacter: Acinetobacter radioresistens	2
Lactobacillus coyniformis group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus coyniformis group	2
Macroccocus equiperdus group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Bacillales: Staphylococcaceae: Macroccocus: Macroccocus equiperdus group	2
Pseudomonas helleri	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Pseudomonadaceae: Pseudomonas: Pseudomonas helleri	2
Pseudomonas tolaasii group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Pseudomonadaceae: Pseudomonas: Pseudomonas tolaasii group	2
PAC002482_g EF603735_s	Bacteria: Bacteroidetes: Bacteroidia: Bacteroidales: AC160630_fPAC002482_gEF603735_s	2
Pseudomonas_uc	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Pseudomonadaceae: Pseudomonas: Pseudomonas_uc	2
Akkermansia muciniphila	Bacteria: Verrucomicrobia: Verrucomicrobiae: Verrucomicrobiales: Akkermansiaceae: Akkermansia: Akkermansia muciniphila	1
Bifidobacterium catenulatum group	Bacteria: Actinobacteria: Actinobacteria_c: Bifidobacteriales: Bifidobacteriaceae: Bifidobacterium: Bifidobacterium catenulatum group	1
Buttiauxella gaviniae	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Enterobacteriaceae: Buttiauxella: Buttiauxella gaviniae	1
Hafnia paralvei	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Hafniaceae: Hafnia: Hafnia paralvei	1
Lactobacillus amylophilus	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus amylophilus	1
Lactobacillus helveticus group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus helveticus group	1
Lactobacillus paracasei group	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Lactobacillaceae: Lactobacillus: Lactobacillus paracasei group	1
Leuconostoc lactis	Bacteria:Firmicutes: Bacilli: Lactobacillales: Leuconostocaceae: Leuconostoc: Leuconostoc lactis	1
Paraburkholderia caledonica group	Bacteria: Proteobacteria: Betaproteobacteria: Burkholderiales: Burkholderiaceae: Paraburkholderia: Paraburkholderia caledonica group	1
Ralstonia insidiosa	Bacteria: Proteobacteria: Betaproteobacteria: Burkholderiales: Ralstonia: Ralstonia insidiosa	1
Ralstonia pickettii group	Bacteria: Proteobacteria: Betaproteobacteria: Burkholderiales: Ralstonia: Ralstonia pickettii group	1
Ralstonia solanacearum group	Bacteria: Proteobacteria: Betaproteobacteria: Burkholderiales: Ralstonia: Ralstonia solanacearum group	1
Raoultella planticola group	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Enterobacteriaceae: Raoultella: Raoultella planticola group	1
PAC000664_g EU504374_s	Bacteria:Firmicutes: Clostridia: Clostridiales: Lachnospiraceae: PAC000664_gEU504374_s	1
PAC001074_g PAC001074_s	Bacteria: Bacteroidetes: Bacteroidia: Bacteroidales: Muribaculaceae: PAC001074_gPAC001074_s	1
Oscillibacter PAC001188_s	Bacteria:Firmicutes: Clostridia: Clostridiales: Ruminococcaceae: Oscillibacter: PAC001188_s	1
Roseburia PAC001271_s	Bacteria:Firmicutes: Clostridia: Clostridiales: Lachnospiraceae: Roseburia: PAC001271_s	1
PAC001372_g PAC001372_s	Bacteria:Firmicutes: Clostridia: Clostridiales: Lachnospiraceae: PAC001372_gPAC001372_s	1
PAC000664_g PAC001488_s group	Bacteria:Firmicutes: Clostridia: Clostridiales: Lachnospiraceae: PAC000664_gPAC001488_s group	1
KE159538_g PAC001696_s	Bacteria:Firmicutes: Clostridia: Clostridiales: Lachnospiraceae: KE159538_gPAC001696_s	1
Bacteroides PAC002443_s	Bacteria: Bacteroidetes: Bacteroidia: Bacteroidales: Bacteroidaceae: Bacteroides: PAC002443_s	1
Hafnia_uc	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Enterobacterales: Hafniaceae: Hafnia: Hafnia_uc	1
Moraxella_uc	Bacteria: Proteobacteria: Gammaproteobacteria: Pseudomonadales: Moraxellaceae: Moraxella: Moraxella_uc	1
GQ387490_g_uc	Bacteria: Actinobacteria: Acidimicrobia: Acidimicrobiales: Iumatobacter: I_GQ387490_gGQ387490_g_uc	1

도면2



도면3

대조 케피어 vs 복합균주 케피어

12시간



18시간



24시간

