



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0050134
(43) 공개일자 2021년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 2/68 (2006.01) A23L 2/02 (2006.01)
A23L 2/52 (2006.01) C12J 1/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 2/68 (2013.01)
A23L 2/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0134376
(22) 출원일자 2019년10월28일
심사청구일자 2019년10월28일

(71) 출원인
동아대학교 산학협력단
부산광역시 사하구 낙동대로550번길 37, 동아대학교 내 (하단동)
(72) 발명자
서권일
부산광역시 사하구 낙동대로 388, 302호(당리동, 경성리치W아파트)
조현동
경상남도 진주시 금산면 금산로 123 금산홍한골든빌 102동 506호
김정호
전라남도 순천시 봉화1길 17, 120동 1303호(조례동, 대광로제비앙)
(74) 대리인
김지형

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조 방법 및 그 조성물**

(57) 요약

본 발명은 매실 농축액과 배 농축액을 알코올 발효균주 및 초산균주를 이용하여 제조하는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법에 관한 것으로 매실 식초를 함유한 음료를 섭취하는 경우 항피로 효과가 있다. 본 발명의 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법은 매실 식초 2~6 중량%, 액상과당 10~18 중량%, 폴리텍스트로스 2~4 중량% 및 물 69.07~85.32 중량%를 교반하여 제1 혼합물을 형성하는 단계, 상기 제1 혼합물과 사과농축액 0.5~2 중량%를 교반하여 제2 혼합물을 형성하는 단계, 구연산 0.05~0.3 중량% 및 제2 혼합물을 용해시켜 제3 혼합물을 형성하는 단계, 상기 제3 혼합물과 착향료 0.1~0.5 중량%, 색소 0.02~0.08 중량%, 비타민C 0.01~0.05 중량%를 혼합하여 균질하는 균질화 단계를 거쳐 매실 식초를 함유한 음료를 제조한다.

(52) CPC특허분류

A23L 2/52 (2013.01)

C12J 1/04 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/302 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	316009-5
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림수산식품기술기획평가원
연구사업명	농생명기술개발사업
연구과제명	매실 (발효)원액 이용 건강기능성 식품 개발 및 상품화
기 여 율	1/1
과제수행기관명	순천대학교
연구기간	2016.05.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법에 있어서,

상기 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법은

(a) 매실 식초 2~6 중량%, 액상과당 10~18 중량%, 폴리텍스트로스 2~4 중량% 및 물 69.07~85.32 중량%를 교반하여 제1 혼합물을 형성하는 단계;

(b) 상기 제1 혼합물과 사과농축액 0.5~2 중량%를 교반하여 제2 혼합물을 형성하는 단계;

(c) 구연산 0.05~0.3 중량% 및 제2 혼합물을 용해시켜 제3 혼합물을 형성하는 단계; 및

(d) 상기 제3 혼합물과 착향료 0.1~0.5 중량%, 색소 0.02~0.08 중량%, 비타민C 0.01~0.05 중량%를 혼합하여 균질하여 매실 식초를 함유한 음료를 제조하는 단계;로 이루어지는 것을 특징으로 하는 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 매실 식초는 정제수 70~84.5 중량%, 매실농축액 0.5~5중량%와 배농축액 15~25중량%를 혼합하여 당도를 13~22° Brix로 조절한 후, 상기 매실농축액 및 배농축액의 혼합물에 알코올 발효균주를 접종 발효시켜 알코올 발효액을 제조한 다음 원심분리 및 여과하고, 상기 알코올 발효액에 초산균주를 접종하여 초산발효시켜 초산발효액을 제조하고, 상기 초산발효액을 65~80° C에서 5~20분간 살균한 다음, 원심분리 및 여과 매실 식초를 제조하는 것을 특징으로 하는 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 알코올 발효액은 상기 매실농축액 및 배농축액의 혼합물에 상기 알코올 발효 균주 *Saccharomyces bayanus*(KCCM 11568)를 접종하여 25℃~37℃에서 6~10일 동안 알코올 함량 범위가 5~10%가 되도록 알코올 발효시켜 제조하는 것을 특징으로 하는 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법.

청구항 4

제 2항에 있어서,

상기 초산발효액은 상기 여과된 알코올 발효액에 초산균주 *Acetobacter pasteurianus*(KCCM 12655)를 접종한 후 25℃~37℃의 온도에서 200~300rpm으로 진탕배양하면서 6~12일 동안 발효시켜 초산 함량 범위가 4.5~7%가 되도록 발효시켜 제조하는 것을 특징으로 하는 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 사과농축액은 사과의 과육을 53℃~96℃의 온도에서 7~21시간 동안 가열하여 45° Brix~68° Brix의 농도로 농축하고 여과하여 제조하는 것을 특징으로 하는 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법.

청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 것을 특징으로 하는 향피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 향피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 향피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료를 제조하기 위해 매실 식초 2~6 중량%, 액상과당 10~18 중량%, 폴리텍스트로스 2~4 중량%, 물 69.07~85.32 중량%, 사과농축액 0.5~2 중량%, 구연산 0.05~0.3 중량%, 착향료 0.1~0.5 중량%, 색소 0.02~0.08 중량%, 비타민C 0.01~0.05 중량%를 혼합하여 향피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료를 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 매실(*Prunus mume*)은 우리나라에서 전역에서 많이 생산되는 매화나무의 과실로서 섬유소, 유리당, 칼슘, 철분 등 무기질 함량이 풍부할 뿐만 아니라, succinic acid, citric acid, malic acid 및 tartaric acid 등의 유기산이 많이 함유되어 있는 알칼리성 식품으로 알려져 있으며, 한방과 민간에서 매실의 뿌리, 잎, 꽃, 과실을 건위, 지갈, 지리, 거담, 주독, 해독, 구토, 해열 등의 효과에 나타내는 한약제로 사용되어왔다. 최근에는 노화예방, 숙취해소 및 변비에 대한 효과가 있다고 밝혀졌으며, 그 외에 장티푸스나 콜레라, 식중독 등의 유발균에 대한 항균효과가 있다고 알려져 있다.

[0003] 식초는 동서양을 막론하고 대표적인 조미료로 우리나라에서 장류 다음으로 많이 애용 되고 있다. 식초의 주성분은 초산으로 휘발성 또는 비휘발성의 유기산, 당류, 아미노산 및 ester 등을 함유하여 독특한 방향(芳香)과 신맛을 지니다. 이러한 식초의 성분들은 동맥 경화, 고혈압 등의 성인병 예방, 콜레스테롤 저하 효과, 체지방 감소 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

[0004] 식초의 종류는 크게 곡류 및 과실류 등을 주원료로 하여 만든 양조식초와 빙초산 또는 초산을 물로 희석하여 만든 합성식초로 분류한다.

[0005] 최근 경제 성장과 더불어 식생활 문화가 향상됨에 따라 건강에 대한 인식이 높아지고 있으며, 다양한 천연 과실을 이용하여 독특한 풍미를 가진 발효 원액에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있으나 매실을 이용한 음료 조성물에 관한 것으로는 국내 공개특허공보 제10-2012-0111648호 및 국내 등록특허공보 제10-1240725호가 있다.

[0006] 국내 공개특허공보 제10-2012-0111648호는 매실에 백설탕을 넣고 혼합하여 1차 숙성하고 여과한 후 2차 숙성시켜 자연숙성 발효 매실원액을 함유하는 매실 음료 조성물의 제조방법에 관한 것이고, 국내 등록특허공보 제10-1240725호는 매실과즙, 액상과당, 말토올리고당 및 물을 포함하고, 당도가 20~30브릭스(brix)인 제 1 혼합물을 형성하는 단계; 상기 제 1 혼합물에 식용 알칼리 화합물을 가하여, pH가 4.0~5.0인 제 2 혼합물을 형성하는 단계; 상기 제 2 혼합물과 식물성 유산균을 포함하는 제 3 혼합물을 형성하는 단계; 및 상기 제 3 혼합물을 발효시킨 후 여과 및 농축하여 발효매실원액을 형성하는 단계를 거쳐 발효매실원액을 이용한 매실음료 조성물의 제조방법에 관한 것이다.

[0007] 그러나 본 발명은 특정 균주를 이용하여 2차 발효시킨 매실 식초를 함유한 음료 조성물 제조의 최적 조건을 확립하고자 하였으며 이에 대한 향피로 효능을 제공하기 위한 것이다. 피로란 사람이 일시적인 활동을 수행할 수 없을 정도의 기운이 없는 상태로 정의할 수 있으며 치료 및 예후가 불분명한 증상으로써 이러한 피로의 누적은 저항력 감소, 질병악화, 집중장애 및 망각의 증상을 유도하여 개인의 업무 및 생산성을 저하시키고, 이는 국가적인 차원에서 경제적으로 큰 손실을 발생시킨다.

[0008] 상기 종래기술은 5개월 이상의 기간 동안 2차에 걸쳐 숙성하거나, 식용 알칼리 화합물을 이용하여 매실음료 조성물을 제조하는 것으로 본원발명에서와 같은 특정 균주를 이용하여 2차 발효시킨 매실 식초를 함유한 음료 조성물을 제조하는 것과는 상이한 것이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) 국내 공개특허공보 제10-2012-0111648호 (2012. 10. 10.)
(특허문헌 0002) 국내 등록특허공보 제10-1240725호 (2013. 02. 28.)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명은 매실 농축액과 배 농축액을 알코올 발효균주 및 초산균주를 이용하여 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법을 제공하는데 그 목적이 있는 것이다.
- [0011] 또한 본 발명은 매실 농축액과 사과 농축액을 알코올 발효균주 및 초산균주를 이용하여 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법을 제공하는데 그 목적이 있는 것이다.
- [0012] 또 다른 목적으로는 뛰어난 향피로 효과를 가지는 매실 식초를 함유한 음료를 제공하기 위함이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명은 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여 매실 식초 2~6 중량%, 액상과당 10~18 중량%, 폴리텍스트로스 2~4 중량% 및 물 69.07~85.32 중량%를 교반하여 제1 혼합물을 형성하는 단계, 상기 제1 혼합물과 사과농축액 0.5~2 중량%를 교반하여 제2 혼합물을 형성하는 단계, 구연산 0.05~0.3 중량% 및 제2 혼합물을 용해시켜 제3 혼합물을 형성하는 단계, 상기 제3 혼합물과 착향료 0.1~0.5 중량%, 색소 0.02~0.08 중량%, 비타민C 0.01~0.05 중량%를 혼합하여 균질하는 균질화 단계를 거쳐 향피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료가 제조된다.
- [0014] 보다 상세하게는 상기 매실 식초는 정제수 70~84.5 중량%, 매실농축액 0.5~5중량%와 배농축액 15~25중량%를 혼합하여 당도를 13~22° Brix로 조절한 후, 상기 매실농축액 및 배농축액의 혼합물에 알코올 발효균주를 접종 발효시켜 알코올 발효액을 제조한 다음 원심분리 및 여과하고, 상기 알코올 발효액에 초산균주를 접종하여 초산발효시켜 초산발효액을 제조하고, 상기 초산발효액을 65~80° C에서 5~20분간 살균한 다음, 원심분리 및 여과하여 매실 식초를 제조할 수 있다.
- [0015] 또한, 상기 알코올 발효액은 상기 매실농축액 및 배농축액의 혼합물에 상기 알코올 발효 균주 *Saccharomyces bayanus*(KCCM 11568를 접종하여 25°C~37°C에서 6~10일 동안 알코올 함량 범위가 5~10%가 되도록 알코올 발효시켜 제조할 수 있다.
- [0016] 또한, 상기 초산발효액은 상기 여과된 알코올 발효액에 초산균주 *Acetobacter pasteurianus*(KCCM 12655를 접종한 후 25°C~37°C의 온도에서 200~300rpm으로 진탕배양하면서 6~12일 동안 발효시켜 초산 함량 범위가 4.5~7%가 되도록 발효시켜 제조할 수 있다.
- [0017] 또한, 상기 사과농축액은 사과의 과육을 53°C 내지 96°C의 온도에서 7~21시간 동안 가열하여 45° Brix ~ 68° Brix의 농도로 농축하고 여과하여 제조할 수 있다.

발명의 효과

- [0018] 본 발명은 매실 농축액에 배 농축액, 사과농축액, 기타 첨가물 및 알코올 발효 균주와 초산균주를 혼합한 후 알코올 발효 및 초산발효하여 매실 식초를 함유한 음료를 제조하는 것으로 매실 식초를 함유한 음료를 섭취하는 경우 피로 지표물질인 혈장의 암모니아, 무기인산, 젖산을 감소를 유도하여 향피로 효과가 있는 것으로 나타났다.
- [0019] 또한 매실 식초를 함유한 음료의 섭취가 체내에서 대사되어 글리코겐의 축적을 증가시킴으로써 체내 해당과정을 통한 에너지 생성에 직접적인 역할을 하는 에너지 저장형태로서 글리코겐의 양은 직접적인 운동능력에 영향을 미친다고 할 수 있다.
- [0020] 젖산에서 피루브산으로의 전환에 관여하는 효소이며 근육의 손상을 나타내는 지표인 LDH와 CK 함량을 측정한 결과 매실 식초를 함유한 음료의 섭취가 LDH 함량은 높게, CK 함량은 낮게 나타남에 따라 매실 식초를 함유한 음료는 향피로 효과를 제공한다고 할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예를 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예에 한정되는 것이 아니라, 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이다. 또한, 본 발명이 첨부된 특허청구의 범위에 속하는 모든 실시 태양을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.
- [0022] 본 발명은 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료의 제조 방법 및 그 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명에 따른 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료는 매실 식초 2~6 중량%, 액상과당 10~18 중량%, 폴리텍스트로스 2~4 중량% 및 물 69.07~85.32 중량%를 교반하여 제1 혼합물을 형성하는 단계, 상기 제1 혼합물과 사과농축액 0.5~2 중량%를 교반하여 제2 혼합물을 형성하는 단계, 구연산 0.05~0.3 중량% 및 제2 혼합물을 용해시켜 제3 혼합물을 형성하는 단계, 상기 제3 혼합물과 착향료 0.1~0.5 중량%, 색소 0.02~0.08 중량%, 비타민C 0.01~0.05 중량%를 혼합하여 균질하는 균질화 단계를 거쳐 항피로 효능을 갖는 매실 식초를 함유한 음료가 제조된다.
- [0023] 이하에서는 위 각 단계에 관하여 구체적으로 설명한다.
- [0024] 1. 제 1 혼합물 형성
- [0025] 매실 식초를 함유한 음료를 제조하기 위한 첫 번째 단계는 매실 식초 2~6 중량%, 액상과당 10~18 중량%, 폴리텍스트로스 2~4 중량% 및 물 69.07~85.32 중량%를 교반하여 제1 혼합물을 형성하는 단계이다.
- [0026] 보다 바람직하게는 상기 제 1 혼합물은 상기 제 1 혼합물 총 중량에 대하여, 매실 식초 3~5 중량%, 액상과당 13~15 중량%, 폴리텍스트로스 3~4 중량% 및 물 74.09~79.57 중량%를 교반하여 제1 혼합물을 형성하는 것이 기호도를 최대로 증진시키기 위해 더욱 바람직할 수 있다. 여기서, 상기 물은 정제수인 것이 바람직하다.
- [0027] 상기 매실 식초는 정제수 70~84.5 중량%, 매실농축액 0.5~5중량%와 배농축액 15~25중량%를 혼합하여 당도를 13~22° Brix로 조절한 후, 상기 매실농축액 및 배농축액의 혼합물에 알코올 발효균주를 접종 발효시켜 알코올 발효액을 제조한 다음 원심분리 및 여과하고, 상기 알코올 발효액에 초산균주를 접종하여 초산발효시켜 초산발효액을 제조하고, 상기 초산발효액을 65~80° C에서 5~20분간 살균한 다음, 원심분리 및 여과하여 매실 식초를 제조할 수 있다.
- [0028] 상기 매실농축액은 과육이 익어서 변색되기 전 청매실을 물로 세척한 후 청매실의 표면에 묻은 수분을 제거하고, 청매실에서 씨핵을 분리한다. 씨핵이 제거된 과육을 착즙하여 과즙을 추출하고 상기 착즙하여 생성된 청매실 생즙에 증류수를 가해 100℃에서 3 시간 동안 열탕 추출한 후 여기에 아세톤(acetone)을 가하여 최종 농도를 50%로 맞춘 다음 침전되는 침전물을 원심 분리하여 제거하고 가용성 성분을 함유한 상등액을 얻었다. 여기에 아세톤을 최종 농도 80%가 되게 더 첨가하여서 침전되는 침전물을 회수하였다. 회수한 침전물은 다시 증류수로 녹여 80% 아세톤으로 재차 침전시키는 절차를 3회 반복하는 방법으로 정제하여 매실농축액 0.5~5%를 얻을 수 있다.
- [0029] 상기 알코올 발효액은 상기 매실농축액 및 배농축액의 혼합물에 상기 알코올 발효 균주 *Saccharomyces bayanus*(KCCM 11568, YM broth 배양)를 접종하여 25℃~37℃에서 6~10일 동안 알코올 함량 범위가 5~10%가 되도록 알코올 발효시켜 제조할 수 있다.
- [0030] 발효할 때 25℃ 이하의 온도에서 발효하게 되면 알코올 발효균주의 활성이 저하되어 경제성 있는 발효가 곤란하고, 37℃ 이상의 온도에서 발효하는 경우에는 고온에서 균의 활성이 저하되어 알코올 발효가 지체되는 문제점이 있다.
- [0031] 상기 알코올 발효 균주 *Saccharomyces bayanus*(KCCM 11568)을 YM 평판배지에 계대배양 후, YM액체배지([표1])에서 28℃~32℃에서 40~55시간 배양하여 주모로 사용한다. 28℃~32℃에서 상기 알코올 발효균주를 배양하는 것은 균주 *Saccharomyces bayanus*의 활성이 상기 온도에서 최적이 되기 때문이다.

표 1

[0032]

알코올 균주의 액체배지 조성

YM 액체배지	
조성성분	비율(%)
Malt extract	0.3
Yeast extract	0.3
Dextrose	1.0
Peptose	0.5

[0033]

상기 초산발효액은 상기 여과된 알코올 발효액에 초산균주 *Acetobacter pasteurianus*(KCCM 12655, mannitol broth 배양)를 접종한 후 25℃~37℃의 온도에서 200~300rpm으로 진탕배양하면서 6~12일 동안 발효시켜 초산 함량 범위가 4.5~7%가 되도록 발효시켜 제조할 수 있다.

[0034]

초산균주 *Acetobacter pasteurianus*(KCCM 12655)는 25℃~37℃ 온도 범위에서 가장 활발하게 활동하기 때문에 25℃ 이하의 온도에서는 균주의 활성이 저하되고, 37℃ 이상의 온도에서는 고온의 영향으로 균주가 활발하게 성장하지 못하는 문제점이 있다.

[0035]

상기 초산균주는 *Acetobacter pasteurianus*(KCCM 12655)을 아래에 나타난 [표 2]의 mannitol broth액체배지 조성으로 29℃~31℃에서 40~55시간 배양하여 종초로 사용한다. 29℃~31℃에서 상기 초산균주를 배양하는 것은 균주 *Acetobacter pasteurianus*의 활성이 상기 온도에서 최적이 되기 때문이다.

표 2

[0036]

초산 균주의 액체배지 조성

액체배지	
조성성분	비율(%)
Yeast Extract	0.5
Mannitol	2.5
Peptose	0.3

[0037]

상기 알코올 발효 균주 *Saccharomyces bayanus*(KCCM 11568)는 상황에 따라 *Saccharomyces cerevisiae*(KCCM 11306)로 대체하여 사용하고, 상기 초산균주 *Acetobacter pasteurianus*(KCCM 12655)도 *Acetobacter aceti*(KCCM 12654)로 대체하여 사용하는 것이 가능하다 항피로 효과를 더 증진시키기 위해서는 *Saccharomyces bayanus*(KCCM 11568)와 *Acetobacter pasteurianus*(KCCM 12655)을 사용하는 것이 더 바람직할 수 있다.

[0038]

2. 제 2 혼합물 형성

[0039]

매실 식초를 함유한 음료를 제조하기 위한 두 번째 단계는 상기 제1 혼합물과 사과농축액 0.5~2 중량%를 교반하여 제2 혼합물을 형성하는 단계이다.

[0040]

상기 사과농축액은 사과의 과육을 53℃ 내지 96℃의 온도에서 7~21시간 동안 가열하여 45° Brix ~ 68° Brix의 농도로 농축하고 여과하여 제조하는 것이 바람직할 수 있다.

[0041]

조금 더 깊은 맛을 나타내는 사과농축액을 제조하기 위하여 초음파 추출법을 이용하여 사과농축액을 얻을 수 있다. 사과의 과육을 건조하고 분쇄하여 분말화한 다음 사과 분말 850 g에 100% 메탄올을 1200 ml를 가하여 60℃에서 초음파 추출장치 (POWERSONIC 420, 화신테크)로 2시간동안 3회 추출하고, 추출액을 여과지로 여과 후, 감압농축기 (N-1000, EYELA)로 감압 농축하여 사과농축액 0.5~2 중량%를 얻을 수 있다.

[0042]

3. 제 3 혼합물 형성

[0043]

매실 식초를 함유한 음료를 제조하기 위한 세 번째 단계는 구연산 0.05~0.3 중량% 및 제2 혼합물을 용해시켜 제3 혼합물을 형성하는 단계이다.

[0044]

보다 상세하게는 구연산 0.15~0.25 중량% 및 제2 혼합물을 용해시켜 제3 혼합물을 형성하는 것이 기호도를 증진시키기위해 더욱 바람직할 수 있다.

[0045]

4. 매실 식초를 함유한 음료를 제조

- [0046] 매실 식초를 함유한 음료를 제조하기 위한 네 번째 단계는 상기 제 3혼합물과 착향료 0.1~0.5 중량%, 색소 0.02~0.08 중량%, 비타민C 0.01~0.05 중량%를 혼합하여 균질하여 매실 식초를 함유한 음료를 제조하는 단계이다.
- [0047] 보다 상세하게는 상기 제 3혼합물과 착향료 0.15~0.25 중량%, 색소 0.04~0.06 중량%, 비타민C 0.02~0.04 중량%를 혼합하여 균질하는 것이 기호도를 증진시키기위해 보다 바람직할 수 있다.
- [0048] 상기 착향료는 매실향을 쓰고, 상기 색소는 그린색소를 쓰는 것이 매실식초를 함유한 음료의 기호도를 증진시키기위해 바람직할 수 있다.
- [0049] 이하, 본 발명의 매실 식초를 함유한 음료의 제조방법을 하기의 시험예 및 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- [0050] <실시예 1, 실시예 2 및 비교예 1 내지 비교예 3> 매실 식초를 함유한 음료의 제조
- [0051] 하기 표 3에 기재된 함량으로 매실 식초, 액상과당, 폴리텍스트로스 및 물을 교반하여 제1 혼합물을 형성하고, 상기 제1 혼합물과 사과농축액을 교반하여 제2 혼합물을 형성하였다. 이어서 구연산 및 제2 혼합물을 용해시켜 제3 혼합물을 형성하고 상기 제 3혼합물과 착향료, 색소, 비타민C를 혼합하여 균질하여 매실 식초를 함유한 음료를 제조하였다.
- [0052] 상기 매실 식초는 정제수 77 중량%, 매실농축액 3중량%와 배농축액 20%중량을 혼합하여 당도를 18° Brix로 조절 한 후, 상기 매실농축액 및 배농축액의 혼합물에 알코올 발효균주를 접종 발효시켜 알코올 발효액을 제조한 다음 원심분리 및 여과하고, 상기 알코올 발효액에 초산균주를 접종하여 초산발효시켜 초산발효액을 제조하고, 상기 초산발효액을 72° C에서 13분간 살균한 다음, 원심분리 및 여과하여 매실 식초를 제조하였다.
- [0053] 상기 알코올 발효액은 상기 매실농축액 및 배농축액의 혼합물에 상기 알코올 발효 균주 *Saccharomyces bayanus*(KCCM 11568) 또는 *Saccharomyces cerevisiae*(KCCM 11306)를 접종하여 31℃에서 8일 동안 알코올 함량 범위가 5~10%가 되도록 알코올 발효시켜 제조하였다.
- [0054] 상기 초산발효액은 상기 여과된 알코올 발효액에 초산균주 *Acetobacter pasteurianus*(KCCM 12655) 또는 *Acetobacter aceti*(KCCM 12654)를 접종한 후 31℃의 온도에서 250rpm으로 진탕배양하면서 8일 동안 발효시켜 초산 함량 범위가 5.5%가 되도록 발효시켜 제조하였다.
- [0055] 상기 사과농축액은 사과의 과육을 53℃ 내지 96℃의 온도에서 13시간 동안 가열하여 52° Brix의 농도로 농축하고 여과하여 제조하였다.

표 3

구 분	비교예1 (중량%)	비교예2 (중량%)	비교예3 (중량%)	실시예1 (중량%)	실시예2 (중량%)
매실식초	1.5	1.5	7	4	4
액상과당	9	9	19	14	14
폴리텍스트로스	-	-	5	3	3
사과농축액	3	3	3	1	1
구연산	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
매실향	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
그린색소	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
비타민C	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
정제수	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량
<i>Saccharomyces bayanus</i>	-	사용	-	-	사용
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	사용	-	사용	사용	-
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	-	사용	-	-	사용
<i>Acetobacter aceti</i>	사용	-	사용	사용	-

[0057] <시험예 1> 매실 식초를 함유한 음료의 향피로 효능

[0058] 가. 실험동물 사육 및 식이

[0059] 실험동물은 4주령의 수컷 SD계 흰쥐 36마리를 구입하였으며 흰쥐는 1주간 적응기간을 거친 후 난괴법에 의하여 비교예 1(A), 비교예 2(B), 비교예 3(C), 실시예 1(D), 실시예 2(E)로 나누었다. 동물 사육실의 환경은 항온(23

℃), 항습(50%), 12시간 간격(08:00~20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하고 동물들은 아크릴 케이지에 두 마리씩 분리하여 사육하였다.

본 실험에 사용한 기본식은 고형사료를 사용하였으며, 식이와 물은 자유섭취를 실시하였으며 2일 마다 체중변화, 물 섭취량 및 식이 섭취량을 측정하였다.

나. 운동 실험 디자인

4주간의 실험기간 동안 일정한 시간에 샘플을 7ml/kg의 양을 경구투여를 한 후 트레이드밀을 이용한 고강도의 점진적 운동을 실시하였다.

운동 프로그램은 첫째 주는 20m/min (10분), 둘째 주는 25m/min (20분), 셋째 주는 25m/min (30분) 그리고 넷째 주에는 30m/min(30분)씩 실시하였으며 희생하기 전 탈진을 유도하기 위하여 40m/min의 속도로 운동 중 전기충격판에 10초 이상 건널 때를 탈진으로 설정하여 실험을 진행하였다.

탈진한 흰쥐는 에틸에테르를 사용하여 희생하고 하대정맥에서 혈액 샘플을 채취한 후 간, 비복근을 채취하여 생리식염수로 세척한 후 80℃ deep freezer에 저장하여 실험에 사용하였다.

모든 실험에 사용된 쥐는 동아대학교 동물실험윤리위원회의 실험동물 가이드라인을 준수하였다.(DIACUC-17-1)

다. 생화학적 지표 분석

Serum inorganic phosphorus, ammonia, lactate는 각각 Biovision(USA), Bioassay(USA)의 kit를 구입하여 측정하였다.

간 및 근육 글리코젠 함량 측정은 조직 0.25g에 30% KOH 400 μL를 혼합하여 100℃에서 30분간 가열한 후 방냉하여 ethanol 1mL을 혼합하고 6000rpm, 15분, 4℃에 원심분리하여 pellet에 증류수 500 μL를 넣고 혼합한 시료를 anthrone 시약을 이용하여 측정하였다.

Lactate dehydrogenase(LDH) 및 creatine kinase(CK) 활성 측정은 Bioassay(USA)의 kit를 각각 구입하여 측정하였다.

Malondialdehyde(MDA) 및 glutathione peroxidase(GPx) 함량 측정은 Biovision(USA)의 kit를 각각 구입하여 측정하였다.

라. 혈중 피로물질 측정

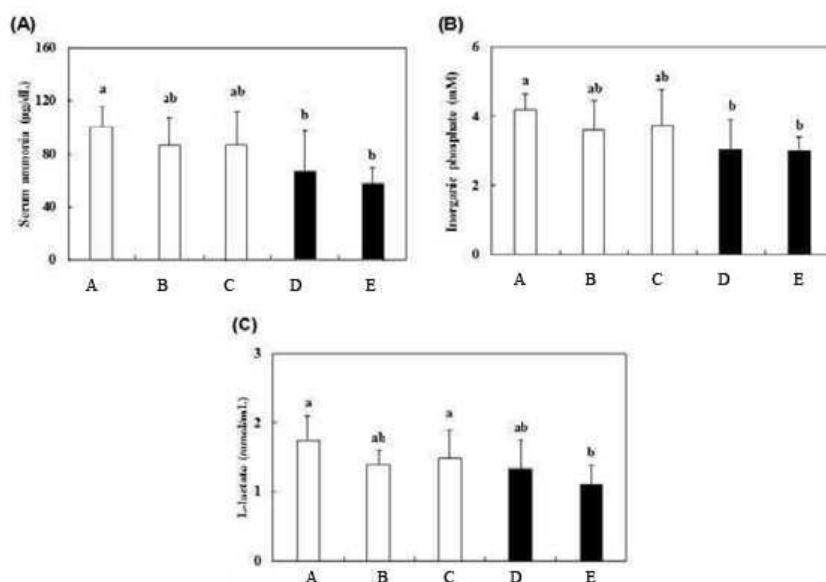


Fig. 1 Effect of PV on (A) serum ammonia (B) inorganic phosphate and (C) lactate in rats exhausted by exercise. Data values are expressed as means ± SD. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Fig. 1은 혈장의 암모니아, 무기인산, 젖산을 측정한 값이며, 이 항목은 피로 지표물질로서 피로상태에서는 함

량이 높게 측정되는 물질이다. 측정 결과 비교예 1, 비교예 2, 비교예 3에서는 피로물질인 암모니아, 무기인산, 젖산의 함량이 큰 차이가 없는 것으로 나타났으나, 실시예 1 및 실시예 2 군에서는 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타내었기에 매실 식초를 함유한 음료의 섭취가 피로물질의 감소를 유도한 것으로 판단된다.

마. 근육 및 간의 글리코겐 함량 측정

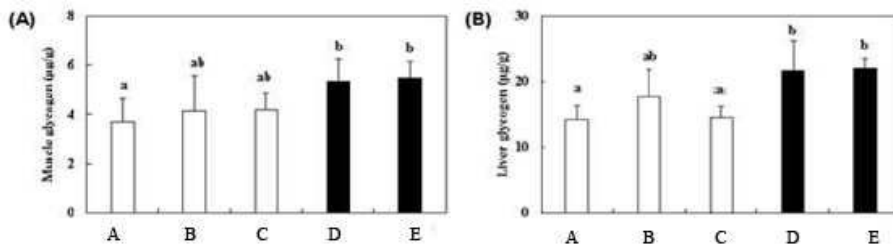


Fig. 2. Effect of PV on (A) liver and (B) muscle glycogen accumulation in rats exhausted by exercise. Data values are expressed as means $\pm$ SD. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Fig. 2는 간과 근육의 글리코겐 함량을 측정한 결과로서, 비교예 1, 비교예 2, 비교예 3군의 경우 간과 근육에 저장된 글리코겐의 함량이 실시예 1 및 실시예 2 군보다는 낮은 것으로 나타나 이는 매실 식초를 함유한 음료의 섭취가 체내에서 대사되어 글리코겐의 축적을 증가시킨 것으로 생각된다. 신체적 피로는 운동 중 에너지 부족과 관련이 있고, 글리코겐은 체내 해당과정을 통한 에너지 생성에 직접적인 역할을 하는 에너지 저장형태로서 글리코겐의 양은 직접적인 운동능력에 영향을 미친다고 할 수 있다.

바. LDH 및 CK 함량 측정

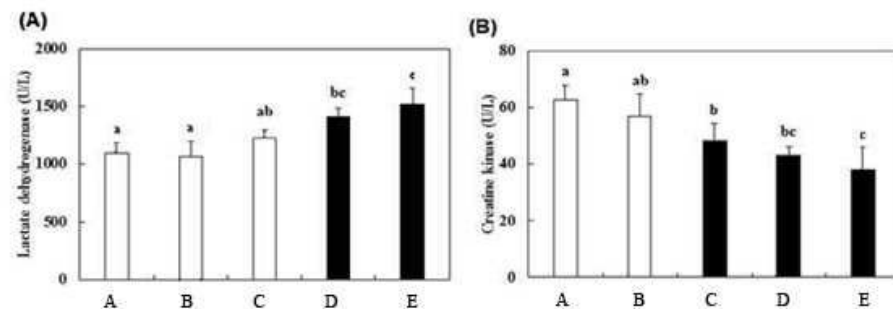


Fig. 3. Effect of PV on (A) lactate dehydrogenase and (B) creatine kinase activities in rats exhausted by exercise. Data values are expressed as means $\pm$ SD. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Fig. 3은 근육조직내 LDH와 혈청의 CK 함량을 측정한 값을 나타낸 것으로, LDH 함량은 비교예 3군이 가장 낮았으며, 실시예 1의 함량이 가장 높게 측정되었고 CK 함량은 실시예 1과 실시예 2의 섭취에 따라 감소하는 경향을 나타나 이는 매실 식초를 함유한 음료의 섭취가 항피로효과가 있는 것으로 생각된다. LDH는 NADH와 NAD^+ 의 부수 작용에 따라 젖산에서 피루브산으로의 전환에 관여하는 효소이며, CK는 ADP를 ATP로 전환하는 에너지 생성반응 과정에 촉매작용하는 효소이나 근육의 손상을 나타내는 지표로서 알려져 있다.