(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2023 년 7 월 6 일 (06.07.2023)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2023/128531 A1

(51) 국제특허분류:
C12J 1/04 (2006.01) *C12G 3/026* (2019.01)
A23L 2/38 (2006.01) *C12R 1/865* (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01) *C12R 1/02* (2006.01)
C12G 3/02 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2022/021334

(22) 국제출원일: 2022 년 12 월 26 일 (26.12.2022)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2021-0189748 2021 년 12 월 28 일 (28.12.2021) KR

(71) 출원인: (주)모닝화이팅인터내셔널 (**MORNING WHITING INTERNATIONAL CO., LTD.**) [KR/KR]; 06167 서울특별시 강남구 삼성로100길 24-1, 에이동 5층, Seoul (KR). 농업회사법인 주식회사 다우팜 (**AGRICULTURAL CORPORATION COMPANY DAU FARM CO., LTD.**) [KR/KR]; 49315 부산광역시 사하구 낙동대로550번길 37, 동아대학교창업보육센터산학관 508호, Busan (KR).

(72) 발명자: 서권일 (**SEO, Kwon Il**); 49329 부산광역시 사하구 낙동대로 388, 302호, Busan (KR). 박울림 (**PARK, Wool Lim**); 49315 부산광역시 사하구 낙동대로550번길 5, 402호, Busan (KR).

(74) 대리인: 김영관 (**KIM, Young Kwan**); 06100 서울특별시 강남구 선릉로 639, 4층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

WO 2023/128531 A1

(54) **Title:** METHOD FOR PREPARING FERMENTED HOVENIA DULCIS THUNB HAVING HANGOVER RELIEF AND LIVER PROTECTION EFFECTS, AND BEVERAGE COMPOSITION PREPARED USING SAME AS MAIN INGREDIENT

(54) **발명의 명칭:** 숙취해소와 간보호 효능을 가지는 발효헛개의 제조방법 및 이를 주원료로 제조한 음료 조성물

(57) **Abstract:** The present invention relates to: a method for preparing a Hovenia dulcis Thunb fruit fermented vinegar having hangover relief and liver protection effects; and a beverage composition prepared using same as a main ingredient. In the method for preparing fermented vinegar by using Hovenia dulcis Thunb fruits, of the present invention, a Hovenia dulcis Thunb fruit concentrate is made using Hovenia dulcis Thunb fruits and is adjusted to 16 °Brix and inoculated with 10%(v/v) seed mash so as to undergo alcohol fermentation at a temperature of 28-32 °C and then undergo filtration so that alcoholic fermentation filtrate is obtained and is used as a substrate of acetic acid fermentation. In the acetic acid fermentation, a fermentation liquid obtained through alcoholic fermentation of Hovenia dulcis Thunb fruits is inoculated with 10% (v/v) of a vinegar starter, and then fermented at a temperature of 28-32 °C under a 120-180 rpm condition.

(57) **요약서:** 본 발명은 숙취해소와 간보호 효능을 가지는 헛개열매 발효식초의 제조방법 및 이를 주원료로 제조한 음료 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 헛개열매를 이용한 발효식초의 제조방법은 헛개열매를 이용하여 헛개열매 농축액을 만들고, 이를 16 °Brix 로 조절한 후, 10%(v/v) 의 주모를 접종하여 온도 28~32 °C에서 알코올발효 시킨 후 여과한 알코올 발효액 여액을 초산발효 기질로 사용한다. 상기 초산발효는 헛개열매를 알코올 발효시킨 발효액에 종초 10%(v/v)를 접종한 후 28~32°C의 온도에서 120~180rpm 조건으로 발효시킨다.

명세서

발명의 명칭: 숙취해소와 간보호 효능을 가지는 발효헛개의 제조방법 및 이를 주원료로 제조한 음료 조성물

기술분야

[1] 본 발명은 숙취해소와 간 보호 효능을 가지는 발효헛개의 제조방법 및 이를 주원료로 제조한 음료 조성물에 관한 것으로 상세하게는 헛개나무 또는 헛개나무열매를 발효시켜 숙취해소 효능을 가지고, 간 보호 효능을 가지는 발효식초를 제조하고, 이를 이용하여 음료 조성물을 제조하는 것에 관한 것이다.

배경기술

[2] 헛개나무 (*Hovenia dulcis* Thunb)는 갈매나무과 낙엽활교목으로 호깨나무, 지구자 나무, 백석목 등으로 불리며, 한의학에서는 간 기능 개선 및 알코올 해독작용이 우수한 것으로 알려져 있다.

[3] 헛개나무 열매는 식물도설이나 본초학에서 이뇨, 갈증해소, 간기능 보호 및 주독 제거가 뛰어나 근래 헛개나무 열매의 항당뇨, 항산화 작용, 알코올 체내 대사 촉진, 숙취 제거 및 갈증해소 등의 약리효과가 알려져 있어 이를 이용한 건강 기능성 식품 제조에 사용하고자 하는 노력이 다양하게 진행되고 있다.

[4] 사람의 몸은 알코올을 적당히 섭취하게 되면 건강증진 및 사교에 도움을 주지만, 과음을 하게 되면 숙취로 인한 구토, 갈증, 근육통, 두통 및 오심 등을 유발하여 생활에 장애를 초래하고 지속적인 알코올 섭취는 체내 대사장애, 영양소 흡수저해를 일으켜 영양결핍, 알코올성 지방간, 간경변, 간염 등의 간질환과 당뇨, 신경정신장애 및 암 등의 발명을 초래한다.

[5] 알코올은 간에서 주로 대사작용을 통해 acetaldehyde를 거쳐 acetate로 산화되는데, 체내에 숙취의 원인 물질인 acetaldehyde에 의해 간세포가 손상되고, 과잉의 알코올은 지질대사에 영향을 미쳐 지방산의 과잉생산 및 지방산 산화 감소를 초래하여 지방간을 유발시키므로 알코올 섭취로 인한 숙취 제거 및 간 손상을 억제하기 위한 연구가 진행되고 있다.

[6] 근래에는 질병 양상의 변화로 인해 소비자의 관심은 발효식품이나 전통식품 등의 건강먹거리인 슬로푸드에 대한 관심이 증가하면서 헛개를 이용하여 숙취해소 음료에 대한 관심이 증가하고 있다.

[7] 식초는 술과 함께 인류의 식생활에서 오랜 역사를 갖는 대표적인 발효식품으로 신맛과 당류, 휘발성 또는 비휘발성의 유기산, ester, 아미노산 등을 함유하고 있고 식초의 성분들은 피로회복, 노화예방 등의 생리활성 기능과 고혈압, 동맥경화, 체내 대사 조절기능 등의 효능이 보고되면서 경강기능 식품으로 주목받고 있다. 식초의 종류는 과실류, 곡류 등을 주원료로 하여 제조한 양조식초와 초산이나 빙초산을 물로 희석하여 제조한 합성식초로 분류된다.

[8] 최근 식생활 문화가 향상되면서 건강에 대한 의식 확대로 인해 합성식초보다

사과, 감, 포도 등과 같은 다양한 과채류를 이용한 천연 양조식초에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으나 종래 헛개나무 열매를 이용한 숙취해소 및 간 보호에 관한 식초 연구는 미흡한 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[9] 본 발명은 상기한 과제를 해결하기 위한 것으로 그 목적은 간기능 개선 및 알코올 분해가 우수한 것으로 보고된 헛개열매를 주원료로 하는 초산 발효원액을 기능성식품으로 소재화하고, 이에 대한 숙취해소 및 간 기능 보호 효능을 갖는 기능성 음료를 제공하는데 있다.

과제 해결 수단

[10] 상기한 기술적 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 헛개열매를 이용하여 발효식초를 제조하고 이를 숙취해소 및 간 보호 효능을 가지는 기능성 음료를 제조한다.

[11] 본 발명의 헛개열매를 이용한 발효식초의 제조방법은 헛개열매를 이용하여 헛개열매 농축액을 만들고, 이를 16°Brix로 조절한 후, 10%(v/v)의 주모를 접종하여 온도 28~32℃에서 알코올발효 시킨 후 여과한 알코올 발효액 여액을 초산발효 기질로 사용한다. 상기 초산발효는 헛개열매를 알코올 발효시킨 발효액에 종초 10%(v/v)를 접종한 후 28~32℃의 온도에서 120~180rpm 조건으로 발효시킨다.

[12] 상기 헛개열매 농축액은 세척한 헛개열매에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하여 농축시키거나 알코올 추출로 제조할 수 있다.

[13] 상기 알코올 발효는 균주 *Saccharomyces cerevisiae*(KCCM 11306)을 YM 평판배지에 계대배양 후, YM 액체배지에서 48시간 정치 배양한다.

[14] 상기 YM 평판배지는 상기 발효 균주를 0.85% NaCl용액으로 희석한 후에 LB, YM, PDA, MRS 평판배지에 도말한 후에 28~32℃ 항온기에서 배양한 후 액상배지에서 배양하였다.

[15] 상기 YM액체배지는 물 100중량부에 덱스트로스(Dextrose) 0.5~1.5중량부, 펩톤(Peptone) 0.2~0.8중량부, Yeast extract 0.1~0.5중량부, Malt extract 0.1~0.5중량부를 함유한 배지를 사용한다.

[16] 상기 초산발효는 균주 *Acetobacter aceti*(KCCM 12654)을 물 100중량부에 mannitol 2~3중량부, peptone 0.1~0.5중량부 및 Yeast extract 0.3~0.8중량부를 혼합한 액체배지에서 30℃에서 48시간 배양시킨다.

[17] 본 발명의 헛개열매 발효식초를 이용한 음료 조성물은 정제수 100중량부에 헛개열매 발효식초 0.5~7중량부, 헛개농축액 1~3중량부, 액상과당 10~15중량부, 프락토올리고당 1~5중량부, 사과농축액 0.5~1중량부, 무수구연산 0.1~0.2중량부, 효모추출분말 0.1중량부, 복합황금추출물 0.01~0.03중량부, 타우린 1~2중량부, 밀크시슬추출분말 0.01~0.10중량부 및 커큐민 0.01~0.05중량부를 포함하여

제조한다.

발명의 효과

[18] 본 발명은 간 기능 개선 및 알코올 분해가 우수한 헛개열매를 이용한 발효식초를 제공하는 효과가 있다.

[19] 또한 본 발명은 상기 발효식초를 주원료로 하는 초산 발효원액을 기능성식품으로 소재화하여 숙취해소음료를 제공할 수 있으며, 간 기능 보호 효능을 갖는 기능성 음료를 제공하는 효과가 있다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[20] 본 발명의 헛개열매를 이용한 발효식초의 제조방법은, 헛개열매를 이용하여 헛개열매 농축액을 만들고, 이를 16°Brix로 조절한 후, 10%(v/v)의 주모를 접종하여 온도 28~32℃에서 알코올발효 시킨 후 여과한 알코올 발효액 여액을 초산발효 기질로 사용한다. 상기 초산발효는 헛개열매를 알코올 발효시킨 발효액에 종초 10%(v/v)를 접종한 후 28~32℃의 온도에서 120~180rpm 조건으로 발효시킨다.

발명의 실시를 위한 형태

[21] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시 예 등을 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 하기 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예들은 당 업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[22] 본 발명의 명세서 전반에 사용되는 '발효헛개'는 발명자가 헛개나무 또는 헛개열매를 발효시켜 '발효식초'를 제조하는 경우를 의미하는 것으로 정의하며, 보다 더 정확하게는 발효헛개라 함은 '헛개열매 발효식초'를 의미한다.

[23] 본 발명의 헛개열매를 이용한 발효식초의 제조방법은 헛개열매를 이용하여 헛개열매 농축액을 만들고, 이를 16°Brix로 조절한 후, 10%(v/v)의 주모를 접종하여 온도 28~32℃에서 알코올발효 시킨 후 여과한 알코올 발효액 여액을 초산발효 기질로 사용한다. 상기 헛개열매 농축액의 당도를 조절할 때 당화액으로 저절하며 14~18°Brix로 조절하며, 바람직하게는 16°Brix로 조절한다.

[24] 상기 주모는 14~16°Brix로 조절한 헛개열매 농축액에 알코올 발효균주 S *accharomyces cerevisiae*(KCCM 11306)를 접종하여 28~32℃의 온도에서 40~56시간 동안 배양하여 주모로 사용한다.

[25] 상기 초산발효는 헛개열매를 알코올 발효시킨 발효액에 종초 10%(v/v)를 접종한 후 28~32℃의 온도에서 120~180rpm 조건으로 발효시킨다. 상기 종초는 종초는 알코올 발효에서 얻어진 헛개열매 알코올 발효액을 여과한 후, 그 여과액에 초산균주 *Acetobacter aceti*(KCCM 기탁균주: 12654)을 접종하여 28~32℃의 온도에서 120~180rpm의 회전속도, 바람직하게는 150rpm으로 진탕배양하면서 48 시간 배양하여 종초로 사용하였다.

[26] 상기 헛개열매 농축액은 세척한 헛개열매에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출한 후 농축시키거나 알코올 추출로 제조할 수 있다.

[27] 상기 알코올 발효는 균주 *Saccharomyces cerevisiae*(KCCM 11306)을 YM 평판배지에 계대배양 후, YM 액체배지에서 48시간 정치 배양한다.

[28] 상기 YM 평판배지는 상기 발효 균주를 0.85% NaCl용액으로 희석한 후에 LB, YM, PDA, MRS 평판배지에 도말한 후에 28~32℃ 항온기에서 배양한 후 액상배지에서 배양하였다.

[29] 상기 YM액체배지는 물 100중량부에 덱스트로스(Dextrose) 0.5~1.5중량부, 펩톤(Peptone) 0.2~0.8중량부, Yeast extract 0.1~0.5중량부, Malt extract 0.1~0.5중량부를 함유한 배지를 사용한다.

[30] 상기 초산발효는 균주 *Acetobacter aceti*(KCCM 12654)을 물 100중량부에 mannitol 2~3중량부, peptone 0.1~0.5중량부 및 Yeast extract 0.3~0.8중량부를 혼합한 액체배지에서 30℃에서 48시간 배양시킨다.

[31] 본 발명의 헛개열매 발효식초를 이용한 음료 조성물은 정제수 100중량부에 헛개열매 발효식초 0.5~7중량부, 헛개농축액 1~3중량부, 액상과당 10~15중량부, 프락토올리고당 1~5중량부, 사과농축액 0.5~1중량부, 무수구연산 0.1~0.2중량부, 효모추출분말 0.1중량부, 복합황금추출물 0.01~0.03중량부, 타우린 1~2중량부, 밀크시슬추출분말 0.01~0.10중량부 및 커큐민 0.01~0.05중량부를 포함하여 제조한다.

[32] 상기 밀크씨슬(Silybum marianum L. Gaertner)에 함유된 실리마린(silymarin)은 플라바노리그난(flavanolignan)으로서, 실제로 C25H22O10의 동일한 분자식을 갖는 실리빈(silybin), 이소실리빈(isosilybin), 실리디아닌(silydianin) 및 실리크리스틴(silychristin)의 4가지 isomer의 혼합물을 포함한다.

[33] 상기 실리마린은 암세포의 증식을 억제 하고, 당뇨에도 효과가 있는 것으로 보고되어 왔으며, 그람 양성 세균에 대한 항미생물 활성도 있으며, 또한 최근에는 방사선 및 자외선에 의한 피부 손상에도 효과가 있는 것으로 보고되고 있으며, 간장 보호 작용과 알코올 유도지질 산화의 예방 및 알코올성 간경화 등에 보호 효과가 있다고 보고된 바 있다.

[34] 커큐민(영어: curcumin)은 인도산 울금(강황)에 주로 포함되어 있는 폴리페놀의 일종이다. 커큐민은 울금의 노란 색깔을 내는 것으로 알려져 있다.

[35] 상기 커큐민은 약간 노란색으로 음식에 색을 낼 때에 쓰이는 식품 첨가물로서 E 코드는 E100이다. 커큐민 및 커큐민과 관련되는 특정성분 PPAR-감마(Peroxisome Proliferator Activated Receptor-gamma)가 염증을 일으키는 매개인자를 차단하는 기제로 작용하며 항염 및 항산화 그리고 항균 효과가 있다고 밝히고 있다.

[36] 그 외에 효모추출분말 및 복합황금추출물을 포함하는 성분들은 시중에서 구입하여 혼합 사용한다.

[37]

[38] 1. 급성 알코올 투여 동물 실험 디자인

[39] 본 발명에서 실험동물은 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐 48마리를 효창 사이언스 (Daegu, Korea)로부터 분양 받았다. 동물 사육실은 일정한 온도 (22±2℃) 및 습도 (50±5%), 12시간의 명암주기를 유지하면서 사육하였고 난괴법에 의하여 급성 알코올 분해능을 위하여 알코올 단독 투여 대조군(Control), 1.5% 헛개열매 농축액군(HT), 헛개열매 발효식초 4%희석액군(PHT), 헛개숙취음료군(DHD), 양성대조군(A, B)으로 구분하였다.

[40] 양성대조군의 경우 시중에 숙취음료로 판매되고 있는 타사제품을 이용함. 각 군의 동물들은 아크릴 케이지에 두 마리씩 분리하여 1주일간 고형식이로 적응시킨 후 사용함. 실험 당일 15시간 절식시킨 후 흰쥐에게 각 시료들을 7 ml/kg으로 투여하고 30분 뒤에 40% 발효주정 알코올을 5 ml/kg 경구 투여한 후 알코올 및 아세트알데히드의 농도를 측정하기 위해 180분 후 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 3시간 동안 실온에 방치해준 뒤 12000rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액만 취하여 실험에 사용하였다.

[41]

[42] 2. 혈중 alchol 및 acetaldehyde 농도 측정

[43] 혈청 내 alcohol 농도는 ethanol 분석 kit (Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였고, 혈청 내 acetaldehyde 농도는 acetaldehyde 분석 kit (Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였다.

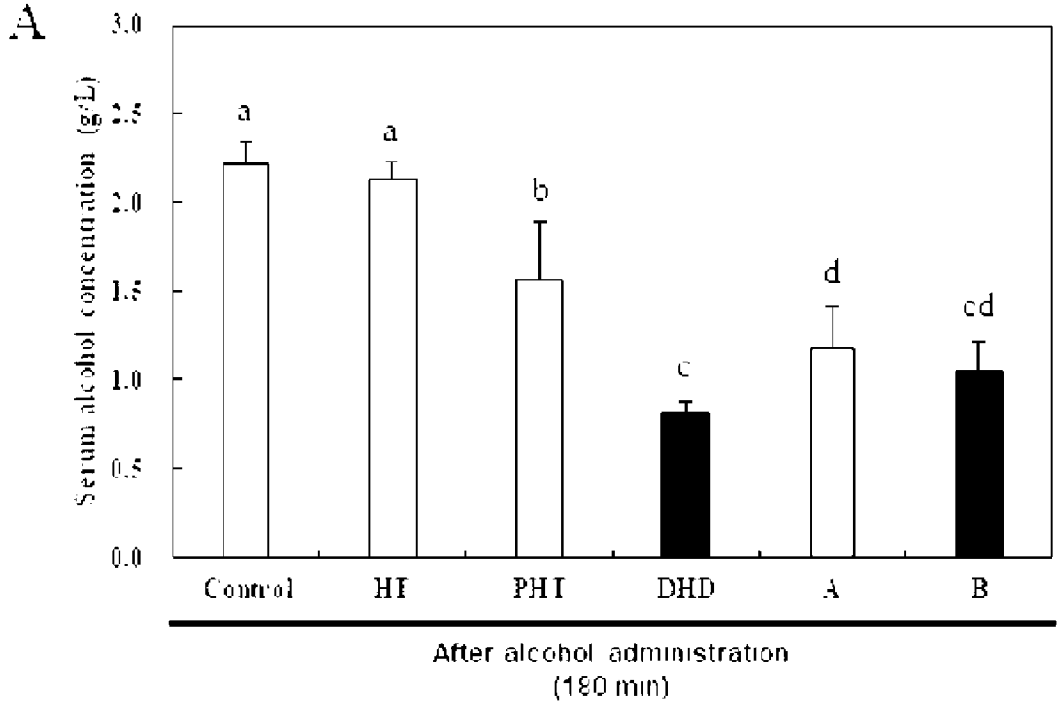
[44]

[45] 3. 실험결과

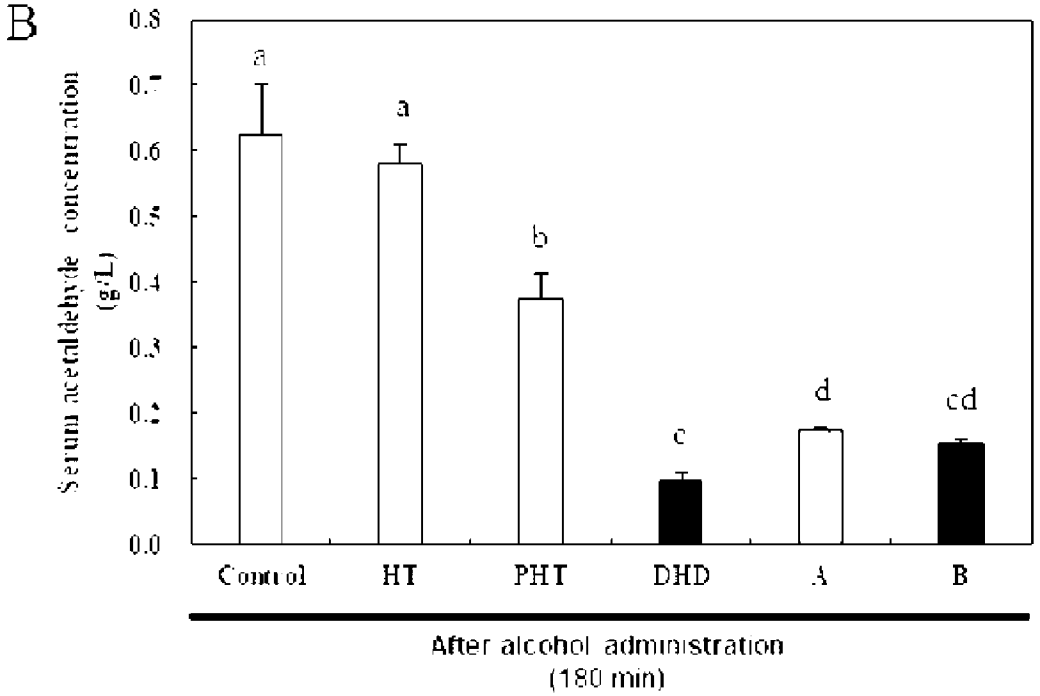
[46] A) 급성 알코올성 쥐 모델에서의 alcohol 및 acetaldehyde 농도 측정

[47] 급성 알코올성 쥐모델의 알코올 분해능 결과는 아래와 같다. alcohol 및 acetaldehyde 농도는 Control군에서 가장 높게 나타났고, HT군에서 비슷한 농도로 확인되었다. PHT군은 Control과 HT군과 비교했을 때 혈중 alcohol 및 acetaldehyde 농도가 유의적으로 감소한 것으로 나타났고, DHD군은 양성대조군인 A, B군보다 더 감소한 것으로 확인되었으며, 특히 A군과 유의적인 차이가 나는 것으로 나타났다. 헛개열매 발효식초음료의 섭취는 혈중 alcohol 및 acetaldehyde 농도를 줄이는 것으로 보아 체내의 알코올 분해능이 뛰어난 것으로 판단된다.

[48]



[49]



[50] **Fig. Effects of DHD on (A) alcohol and (B) acetaldehyde concentration in serum.** Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

[51] 4. 헛개열매를 주원료로 한 헛개열매 발효식초음료의 만성 알코올 투여 모델에서의 숙취해소 및 간 보호 효과 확인

[52] 가. 재료 및 방법

[53] A) 만성 알코올 투여 동물 실험 디자인

[54] 실험동물은 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐 48마리를 효창사이언스(Daegu, Korea)로부터 분양 받았으며, 총 6군으로 정상군(Normal), 알코올 단독 투여 대조군(Control), 1.5% 헛개열매 농축액군(HT), 가공한 헛개열매 4%희석액군(PHT), 헛개숙취음료군(DHD), 간 기능 개선제로 알려진 실리마린을 투여한 양성 대조군(Silymarin)과 같이 나누었다. 각 군의 동물들은 아크릴 케이지에 두 마리씩 난괴법으로 분리하여 1주일간 고형식이로 적응시킨 후 실험을 진행하였다. 알코올로 인한 급성 독성을 방지하기 위해 각 일주일씩 10, 20% 발효주정 알코올을 투여하였고, 4주간 30% 발효주정 알코올을 투여함과 동시에 각 시료들을 투여하였음. 양성 대조군은 50 mg/kg을 투여하였고, 양성 대조군을 제외한 나머지 군은 7 ml/kg으로 투여하였고, 정상군과 대조군은 동량의 증류수를 투여함. 실험 당일 15시간 절식시킨 후 희생시켜 혈액 및 장기를 채취하였다. 채취한 혈액은 3시간 동안 실온에 방치해준 뒤 12000rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액만 취하여 실험에 사용하였다.

[55] 본 실험에 사용한 기본식이는 고형식이를 구입하여 사용하였으며, 물 또는 알코올과 식이가 자유롭게 공급되게 하였고 매일 체중과 식이 섭취량, 물 또는 알코올 섭취량을 측정함. 동물실험은 동아대학교 실험동물이용 기준에 의거하여 윤리적으로 실시하였다.

[56] B) 혈중 alchol 및 acetaldehyde 농도 측정

[57] 혈청 내 alcohol 농도는 ethanol 분석 kit (Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였고, 혈청 내 acetaldehyde 농도는 acetaldehyde 분석 kit (Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였다.

[58] C) 간 조직 alcohol dehydrogenase (ADH) 및 acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성 측정

[59] 간 조직 100mg을 1xPBS 500 μl와 혼합하여 균질화한 후 10000rpm, 4℃, 5분동안 원심분리 하여 상층액을 취하여 실험에 사용하고, ADH 활성은 ADH 활성 kit (Bioassay systems, San Francisco Bay)를 이용하여 측정하였고, ALDH 활성은 ALDH 분석 kit (BioVision, California)를 이용하여 측정하였다.

[60] D) 과산화지질 함량 측정

[61] 과산화지질은 Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)의 함량을 측정하였다. 간 조직을 균질화한 용액 1ml과 TBA(2-thiobarbituric acid) 시약 2ml을 교반해준 후 끓는 물에 30분간 반응시켰다. 그 후 얼음물로 반응을 정지시키고 3000rpm, 10분 동안 원심분리하여 상층액을 취하여 535nm 흡광도로 측정하였다.

[62] E) 지질농도 및 생화학적 지표 물질 분석

[63] 혈청 내 LDL 및 HDL-cholesterol, triglyceride 함량, ALT (GPT), AST (GOT), GGT (γ-GTP) 농도는 전문 분석 기관인 Southeast Medi-Chem Institute (Korea)에서 분석을 진행하고, 혈중 total cholesterol 함량과 간 조직의 triglyceride 농도는 각각

분석 kit (Elabscience, United States)로 측정하였다

[64] F) Glutathione 함량 분석

[65] 혈청 및 간 조직의 glutathione 함량 분석은 kit (Elabscience, United States)를 사용하여 측정하였다.

[66] G) Hematoxylin and Eosin (H&E) 염색 분석

[67] 간 조직을 4% fromaldehyde 용액으로 고정시킨 후 H&E 용액으로 염색시켜 광학현미경으로 관찰하였다.

[68]

[69] 나. 실험결과

[70] A) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 체중 및 음료 섭취량 변화

[71] 만성 알코올 투여 동물의 체중 및 음료 섭취량 변화에 대한 결과는 아래표와 같다. 쥐의 초기 몸무게는 모든 군에서 유의적인 차이는 보이지 않았으나, 최종 몸무게에서 Control군과 Normal군에서 유의적인 차이를 보였고, HT군과 PHT군, Silymarin군은 Control군과 유의적인 차이를 보이지 않았으나 PHT군의 쥐에서 체중이 증가하는 것으로 나타났다. DHD군의 경우 Normal군과 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 음료 섭취량의 경우 모든 군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다.

[72]

[73] **Table. Effect of DHD on body weight, weight gain and water consumption in chronic- ethanol-administered rats**

[74]

	Normal	Control	HT	PHT	DHD	Silymarin
Body weight (g)						
Initial	254.50 ± 5.36^{a}	253.75 ± 13.74^{a}	254.17 ± 15.87^{a}	254.50 ± 8.52^{a}	254.83 ± 2.93^{a}	253.67 ± 17.76^{a}
Final	434.50 ± 32.40^{a}	353.50 ± 24.25^{b}	373.33 ± 12.91^{bc}	387.67 ± 9.29^{bc}	409.33 ± 4.04^{ac}	372.33 ± 7.09^{bc}
Weight gain	177.42 ± 32.00^{a}	97.50 ± 29.07^{b}	127.33 ± 9.52^{bc}	137.33 ± 18.33^{c}	154.50 ± 4.92^{ac}	118.67 ± 10.91^{bc}
Water consumption (ml/day)	53.98 ± 11.34^{a}	42.16 ± 12.20^{a}	42.63 ± 11.94^{a}	41.54 ± 11.25^{a}	42.70 ± 9.62^{a}	42.92 ± 11.88^{a}

[75] Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

[76]

[77] B) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 장기 무게 변화

[78] 만성 알코올 투여 쥐에서의 장기 무게 변화는 아래의 표와 같다. 비장, 신장, 심장의 무게는 모든 군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 간의 무게 경우 Control군에서 가장 높은 것으로 나타났으며, 반면 Normal군에서 가장 낮은

무게를 보였다. HT군과 PHT군, Silymarin군은 Control군과 유의적으로 간의 무게가 감소한 것으로 확인되었고, PHT군이 HT군과 Silymarin군보다 간의 무게가 낮은 것으로 확인되었다. DHD군의 경우 HT군, PHT군, Silymarin군보다 낮은 무게를 보였으며, Normal군과 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 고환 무게의 경우 Control군에서 가장 높은 무게를 나타났고, PHT군은 HT군과 Silymarin군보다 낮은 무게를 보였다. DHD군은 Normal군과 유의적인 차이가 없이 낮은 고환의 무게를 나타내었다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취는 알코올성 지방간을 억제하는 것으로 판단된다.

[79]

[80] **Table. Effect of DHD on organ weights in chronic ethanol-administered rats**

[81]

	Normal	Control	HT	PHT	DHD	Silymarin
Liver (g)	9.03 ± 0.22^{a}	12.83 ± 0.70^{b}	11.43 ± 0.95^{c}	10.39 ± 0.27^{c}	9.26 ± 0.21^{a}	10.93 ± 0.27^{c}
Spleen (g)	0.73 ± 0.07^{a}	0.69 ± 0.09^{a}	0.69 ± 0.07^{a}	0.71 ± 0.07^{a}	0.72 ± 0.06^{a}	0.69 ± 0.01^{a}
Kidney (g)	2.40 ± 0.11^{a}	2.63 ± 0.04^{a}	2.61 ± 0.19^{a}	2.55 ± 0.11^{a}	2.41 ± 0.07^{a}	2.61 ± 0.06^{a}
Testis (g)	3.36 ± 0.14^{a}	3.94 ± 0.19^{b}	3.81 ± 0.15^{b}	3.67 ± 0.17^{a,b}	3.40 ± 0.26^{a}	3.78 ± 0.19^{b}
Heart (g)	1.17 ± 0.02^{a}	1.09 ± 0.13^{a}	1.10 ± 0.08^{a}	1.11 ± 0.05^{a}	1.15 ± 0.03^{a}	1.08 ± 0.11^{a}

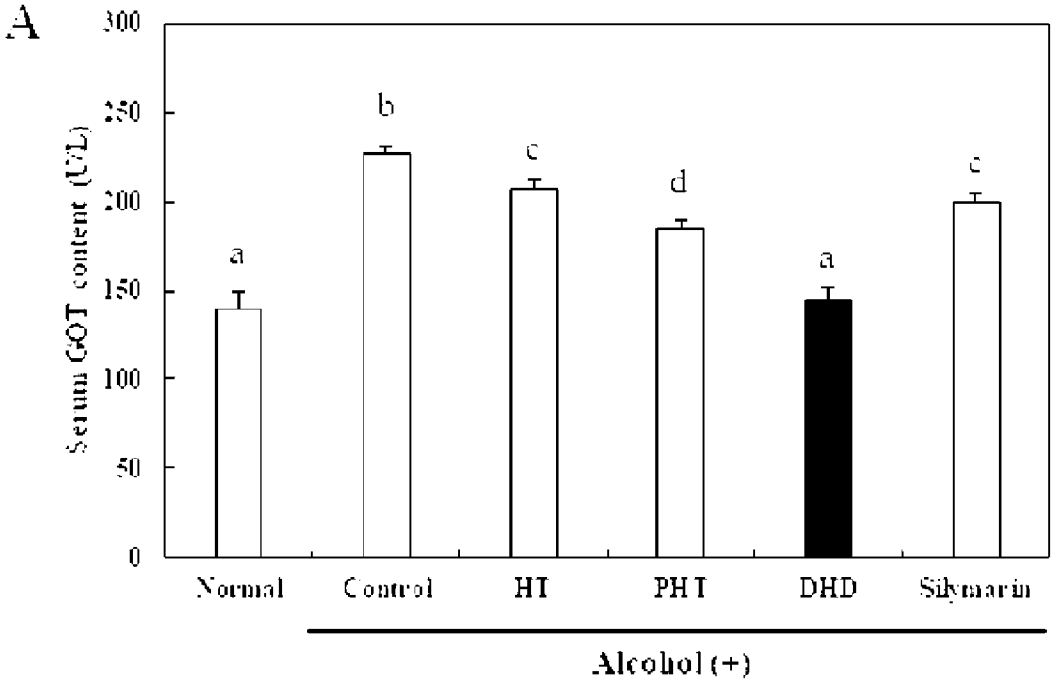
[82] Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

[83]

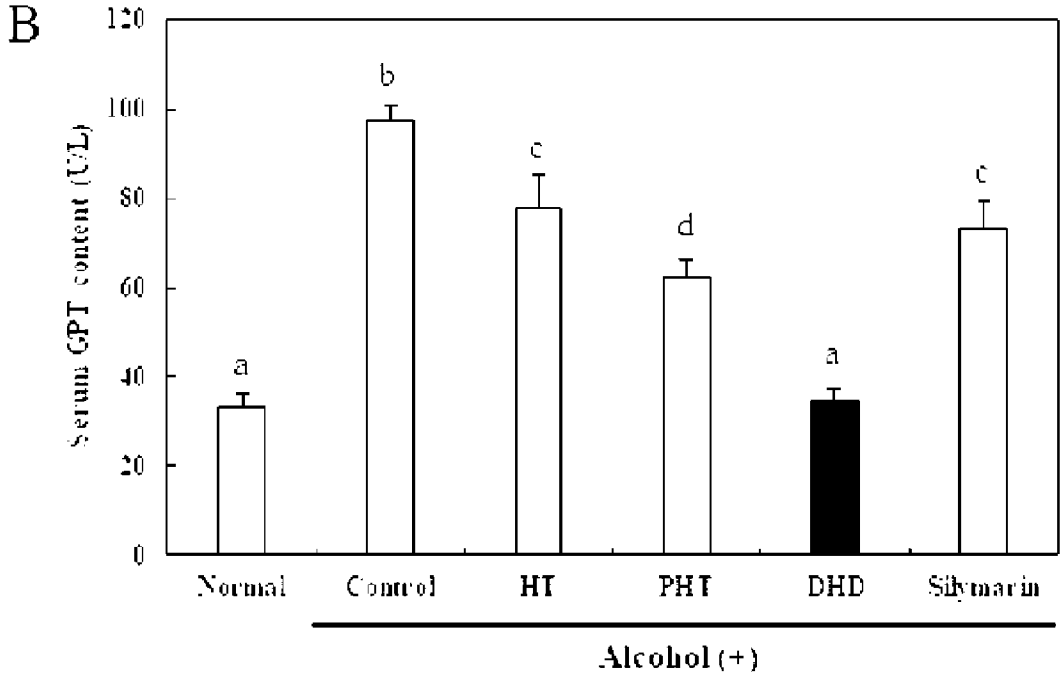
[84] B) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 간 손상 지표물질의 변화

[85] 만성 알코올 투여한 쥐에서의 간 손상 지표물질 측정 결과는 아래의 그림에 나타내었다. GOT, GPT 및 γ-GTP 농도는 Control군에서 가장 증가한 것으로 나타났고, Normal군에서 가장 낮은 농도로 확인되었다. GOT, GPT 및 γ-GTP 농도는 PHT군은 Control군, HT군, Silymarin군과 유의적으로 감소하는 것으로 확인되었다. DHD군의 GOT, GPT 및 γ-GTP 농도는 Normal군과 유의적인 차이는 나타나지 않았고, Control군, HT군, PHT군, Silymarin군보다 유의적으로 낮은 농도로 나타났다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취는 알코올성 간 손상으로부터 간을 보호하는 것으로 판단된다.

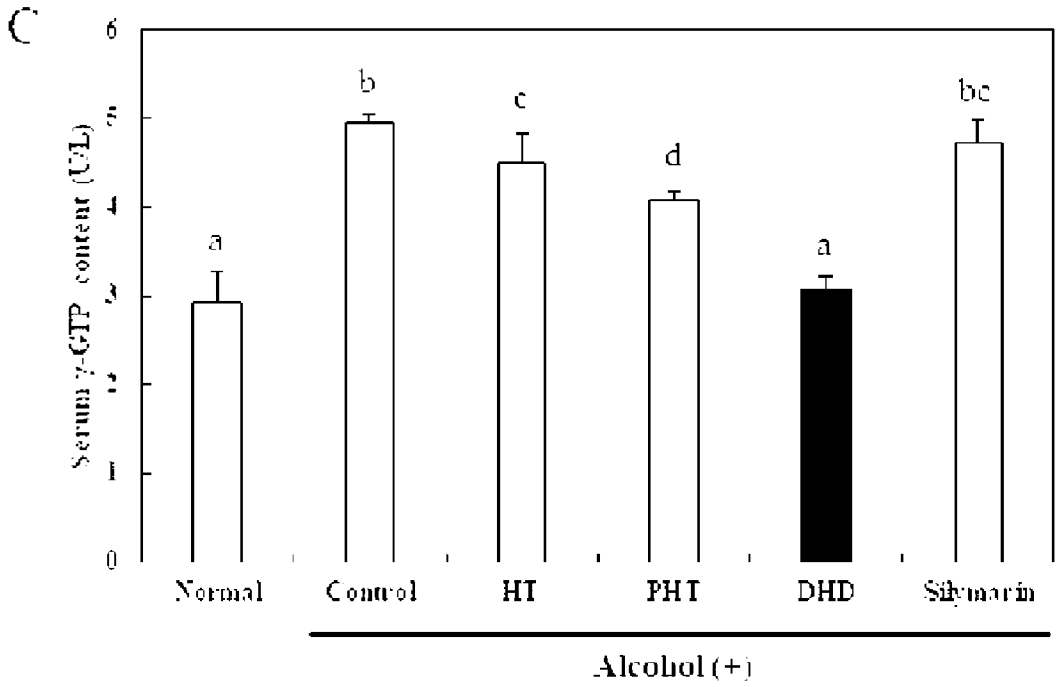
[86]


A
Serum GOT content (U/L)
300
250
200
150
100
50
0
a
b
c
d
a
c
Normal
Control
HT
PHT
DHD
Silymarin
Alcohol (+)

[87]


B
Serum GPT content (U/L)
120
100
80
60
40
20
0
a
b
c
d
a
c
Normal
Control
HT
PHT
DHD
Silymarin
Alcohol (+)

[88]



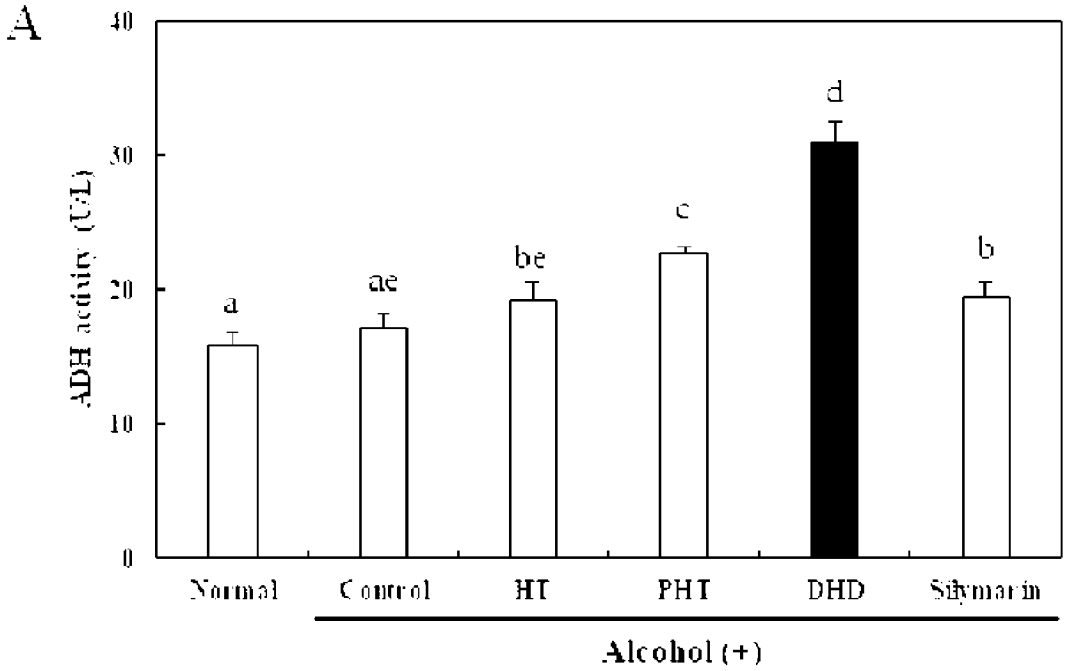
[89] **Fig. Effects of DHD on (A) GOT (AST) content and (B) GPT(ALT) content in (C) γ-GTP content serum in chronic ethanol-administered rats.** Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

[90]

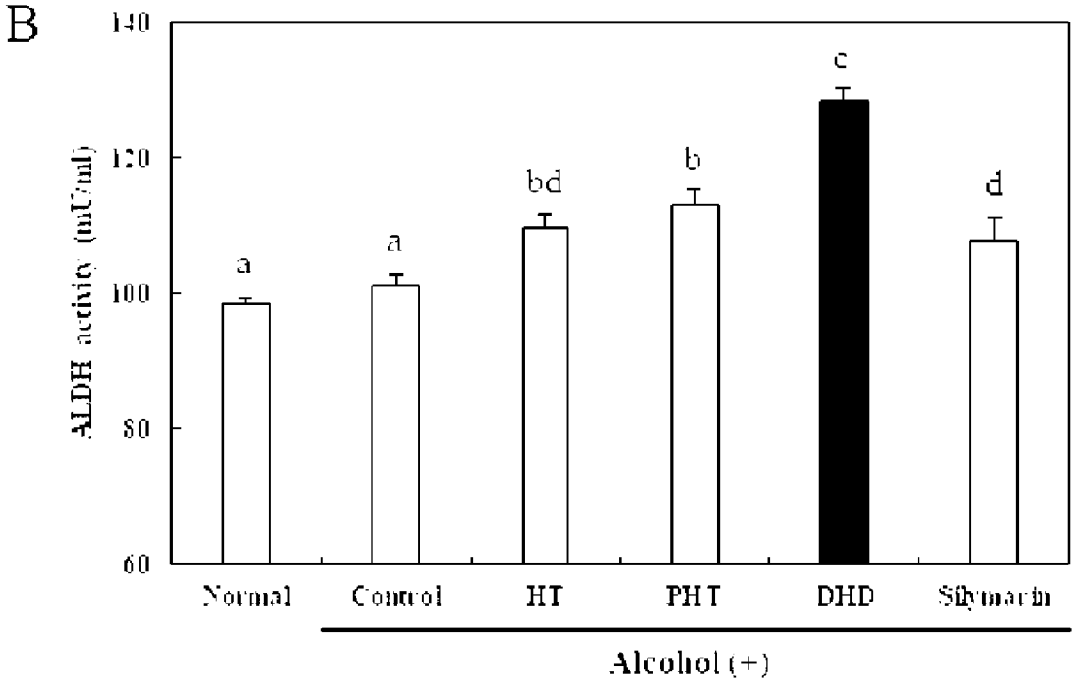
[91] C) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 알코올 분해 효소 활성 (ADH, ALDH)의 변화

[92] 만성 알코올 투여 쥐에서의 ADH 및 ALDH 활성의 결과는 아래와 같다. ADH 활성은 Control군보다 HT군, PHT군, DHD군, Silymarin군이 더 높은 활성을 보였고, 특히 Silymarin군, PHT군, DHD군이 유의적으로 증가하였다. PHT군은 HT군, Silymarin군보다 유의적으로 증가하였으며, DHD군은 유의적으로 가장 높은 ADH 활성을 보였다. ALDH 활성은 PHT군이 Control군, HT군, Silymarin군보다 높은 활성을 보였으며 특히 Silymarin군보다 유의적으로 높았다. DHD군은 ALDH 활성이 유의적으로 가장 높은 것으로 나타났다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취는 알코올 분해 효소 활성을 증가시키는 것으로 판단된다.

[93]



[94]



[95] **Fig. Effects of DHD on (A) ADH activity and (B) ALDH activity in liver in chronic ethanol-administered rats.** Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

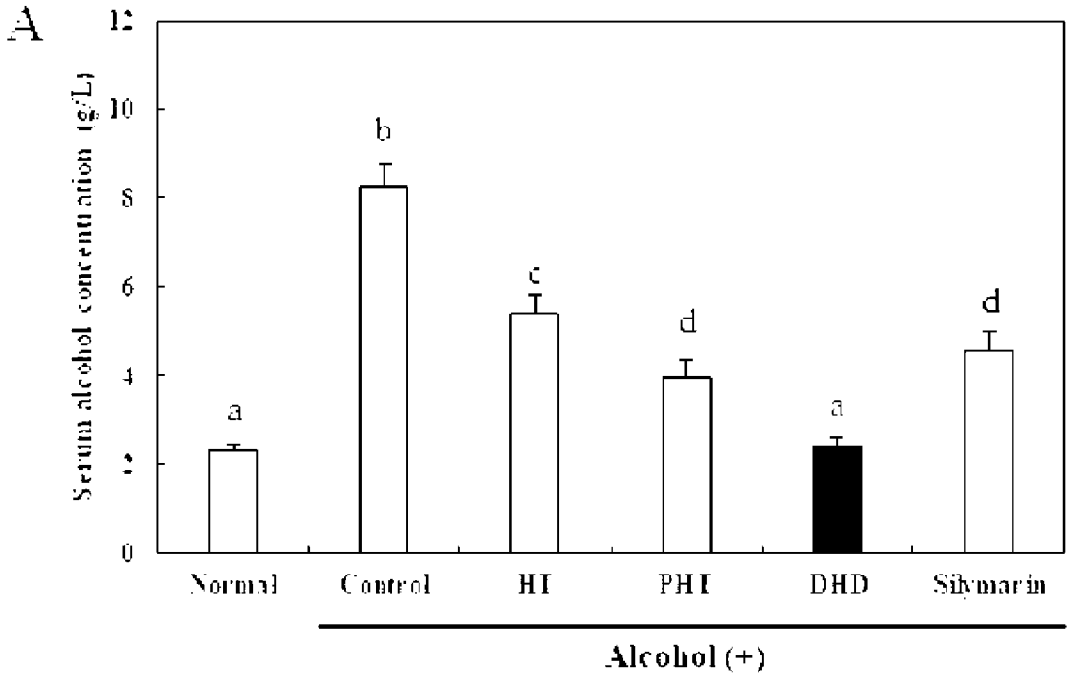
[96]

[97] D) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 혈중 alcohol 및 acetaldehyde 농도 변화

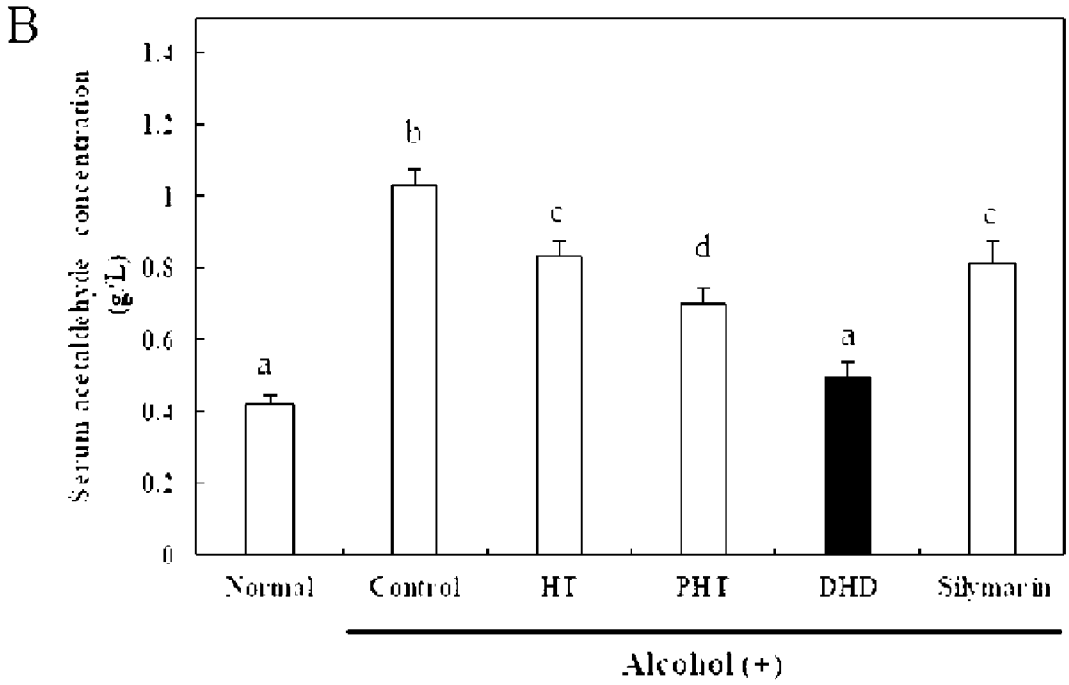
[98] 만성 알코올 투여 쥐에서의 alcohol 및 acetaldehyde 농도의 결과는 아래 그림과

같다. 혈중 alcohol 농도는 Control군에서 유의적으로 가장 높은 것으로 나타났고, Normal군에서 가장 낮은 것으로 나타났다. PHT군은 HT군보다 유의적으로 낮은 농도를 보였고, DHD군은 HT군, PHT군, Silymarin군보다 유의적으로 낮은 농도를 보였으며 Normal군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. Acetaldehyde 농도는 Control군에서 유의적으로 가장 높은 것으로 나타났고, Normal군에서 가장 낮은 것으로 나타났다. PHT군은 HT군과 Silymarin군보다 유의적으로 낮은 농도를 보였고 DHD군은 HT군, PHT군, Silymarin군보다 유의적으로 낮은 acetaldehyde 농도를 보였다. 또한 DHD군은 Normal군과 유의적은 차이를 보이지 않았다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취는 혈중 alcohol 및 acetaldehyde 농도를 줄이는 것으로 판단된다.

[99]



[100]



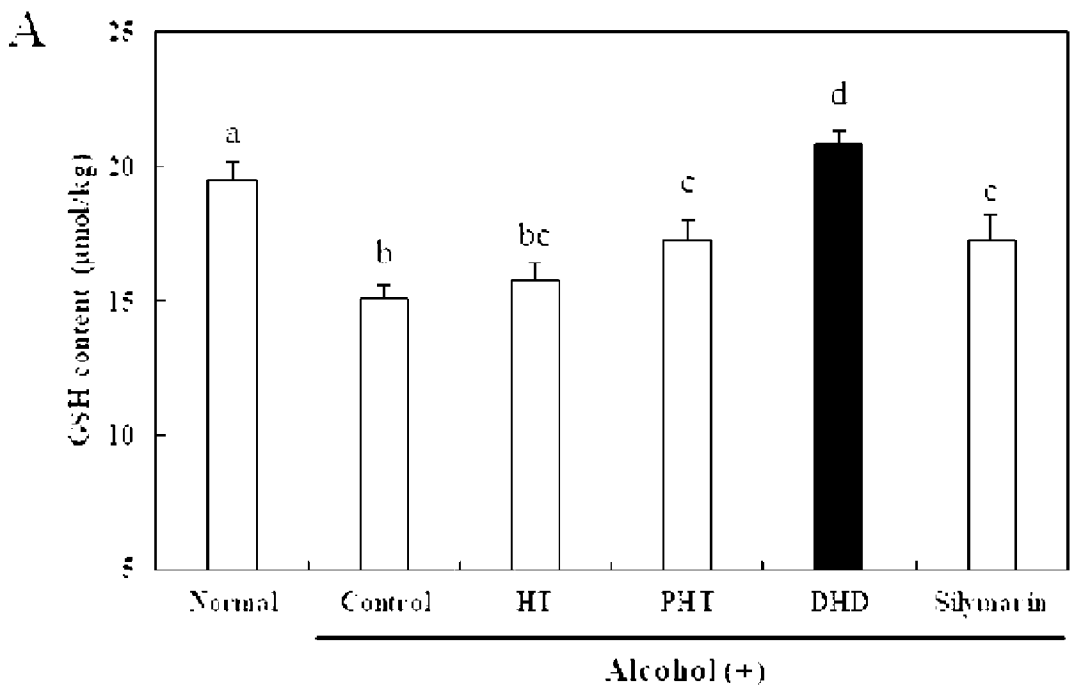
[101] **Fig. Effects of DHD on (A) alcohol and (B) acetaldehyde concentration in serum in chronic ethanol-administered rats.** Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

[102]

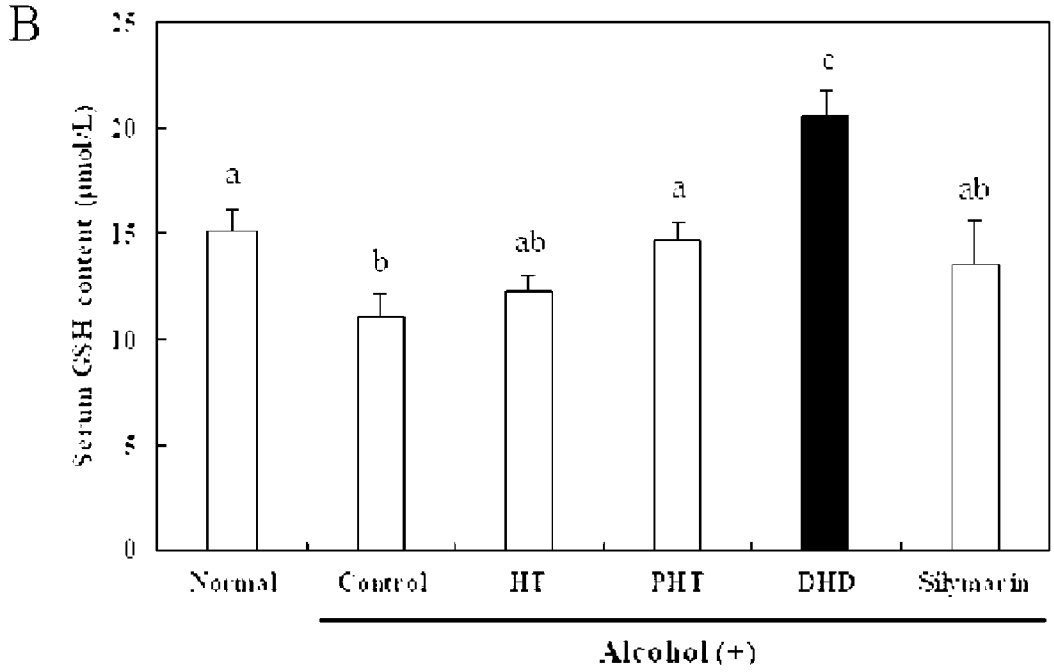
[103] E) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 간 및 혈중 glutathione (GSH) 농도 변화

[104] 만성 알코올 투여 쥐에서의 간 및 혈중 GSH 농도의 측정 결과는 아래 그림과 같다. 간 조직 및 혈중 GSH 농도는 Control군에서 가장 낮은 농도로 나타났고, HT군은 Control군보다 높았으나 유의적인 차이는 보이지 않았고 PHT군은 HT군보다 유의적인 차이는 보이지 않았으나 높은 농도를 보였다. DHD군은 간 및 혈중 GSH 농도가 유의적으로 가장 높은 농도를 보였다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취가 간 및 혈중 GSH를 활성화시키는 것으로 판단된다.

[105]



[106]



[107] **Fig. Effects of DHD on (A) GSH content in liver and (B) GSH content in serum in chronic ethanol-administered rats.** Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

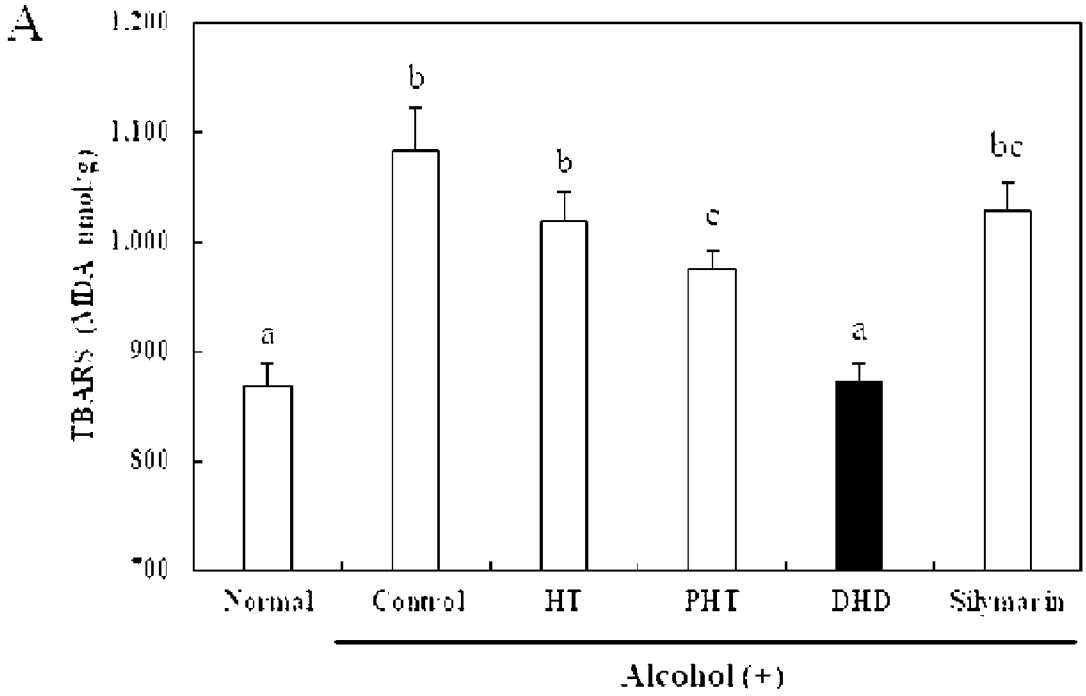
[108]

[109] F) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 간 및 혈중 TBARS (MDA) 농도 변화

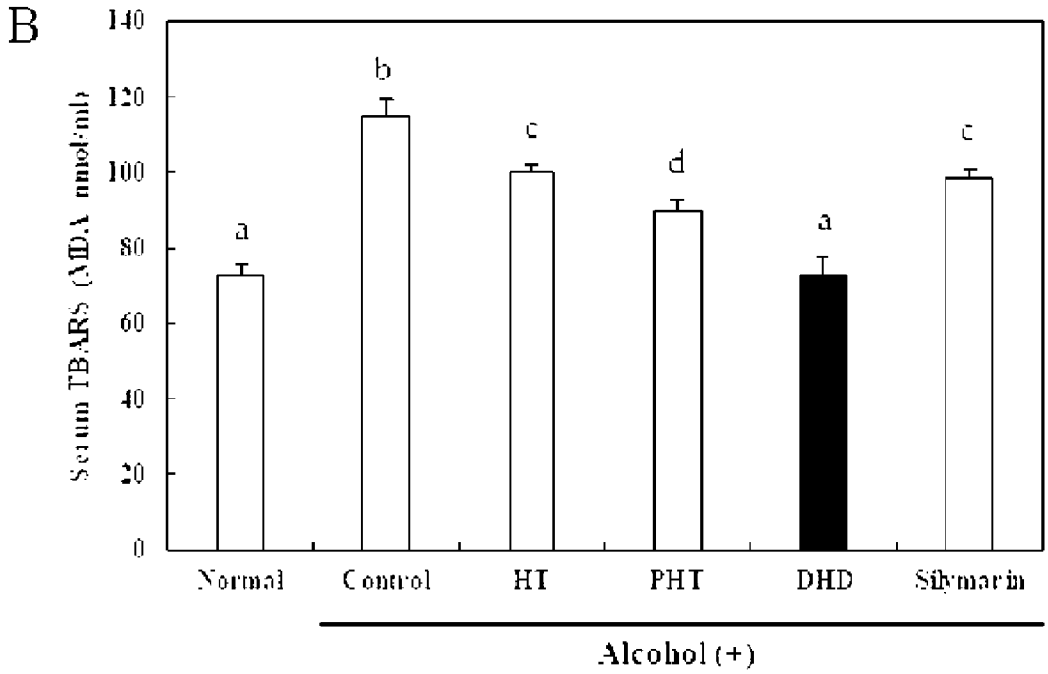
[110] 만성 알코올 쥐에서의 간 및 혈중 과산화지질 농도는 아래 그림에 나타냈다. 간

내 과산화지질 농도의 경우 Control군에서 가장 높았고 Normal군에서 가장 낮았다. HT군은 Control군보다 과산화지질 농도가 낮았지만, 유의적인 차이는 보이지않았고, PHT군은 HT군보다 유의적으로 농도가 감소되었고, Silymarin군보다 낮은 농도를 보였다. DHD군은 PHT군보다 유의적으로 낮은 과산화지질 농도를 보였고, Normal군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈중 과산화지질의 경우 Control군에서 유의적으로 가장 높은 농도를 보였다. HT군과 Silymarin군은 Control군보다 유의적으로 낮은 농도로 확인되었고 PHT군은 HT군과 Silymarin군보다 유의적으로 낮은 농도를 보였다. DHD군은 PHT군보다 유의적으로 낮은 농도를 보였으며, Normal군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취는 간 및 혈중 과산화지질 생성을 억제하는 것으로 판단된다.

[111]



[112]



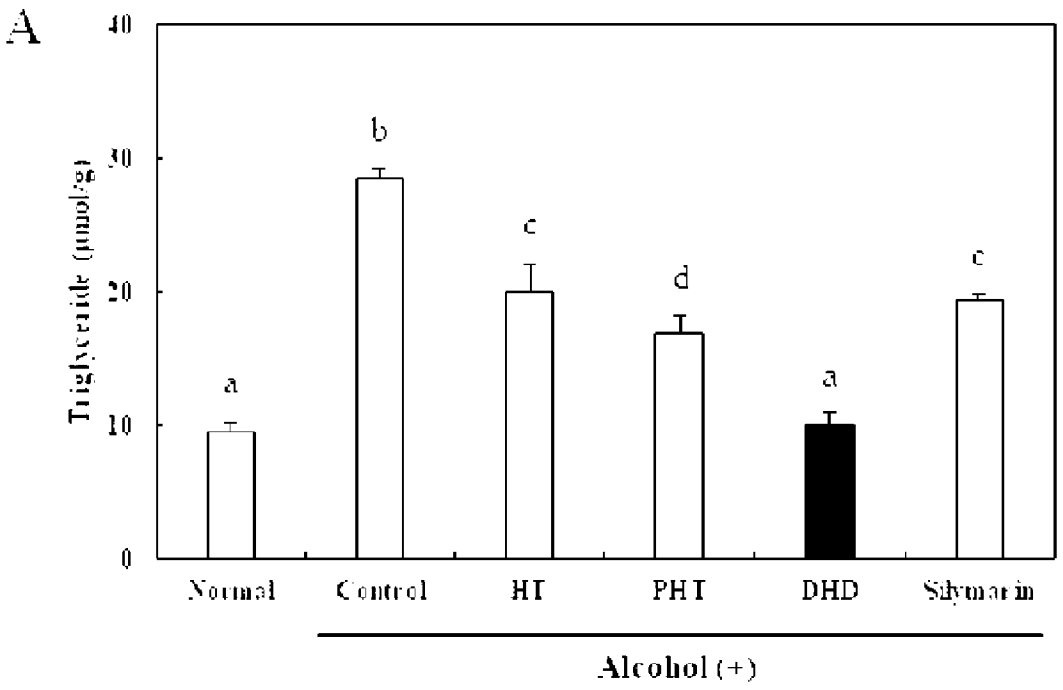
[113] **Fig. Effects of DHD on (A) TBARS concentration in liver and (B) TBARS concentration in serum in chronic ethanol-administered rats.** Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

[114]

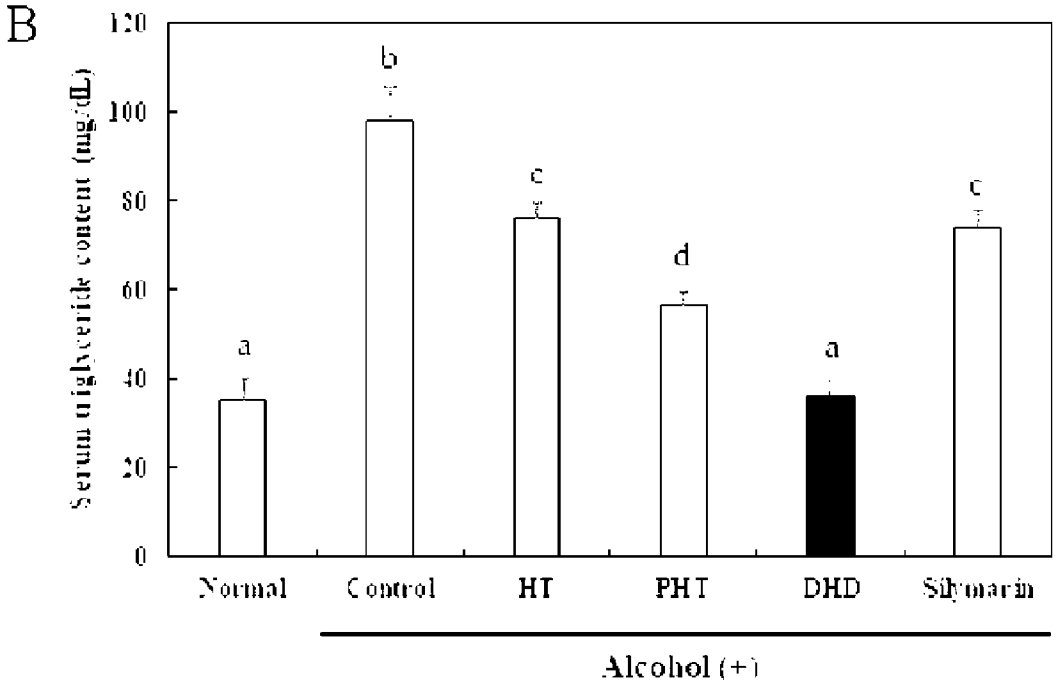
[115] G) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 간 및 혈중 triglyceride 농도 변화

[116] 만성 알코올성 쥐에서의 간 및 혈중 triglyceride 농도의 측정 결과는 아래 그림과 같다. 간 및 혈중 triglyceride 농도의 경우 Control군에서 유의적으로 가장 높은 것으로 나타났다. HT군은 Control군보다 유의적으로 농도가 낮고 Silymarin군과 비슷한 것으로 확인되었다. PHT군은 HT군과 Silymarin군보다 유의적으로 간 및 혈중 triglyceride 농도가 낮은 것으로 나타났고, DHD군은 PHT군보다 유의적으로 낮은 농도로 확인되었으며, Normal군과 비슷한 농도를 보였다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취는 간 및 혈중 triglyceride의 생성을 억제시키는 것으로 판단된다.

[117]



[118]



[119] **Fig. Effects DHD on (A) triglyceride content in liver and (B) triglyceride content in serum in chronic ethanol-administered rats.** Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

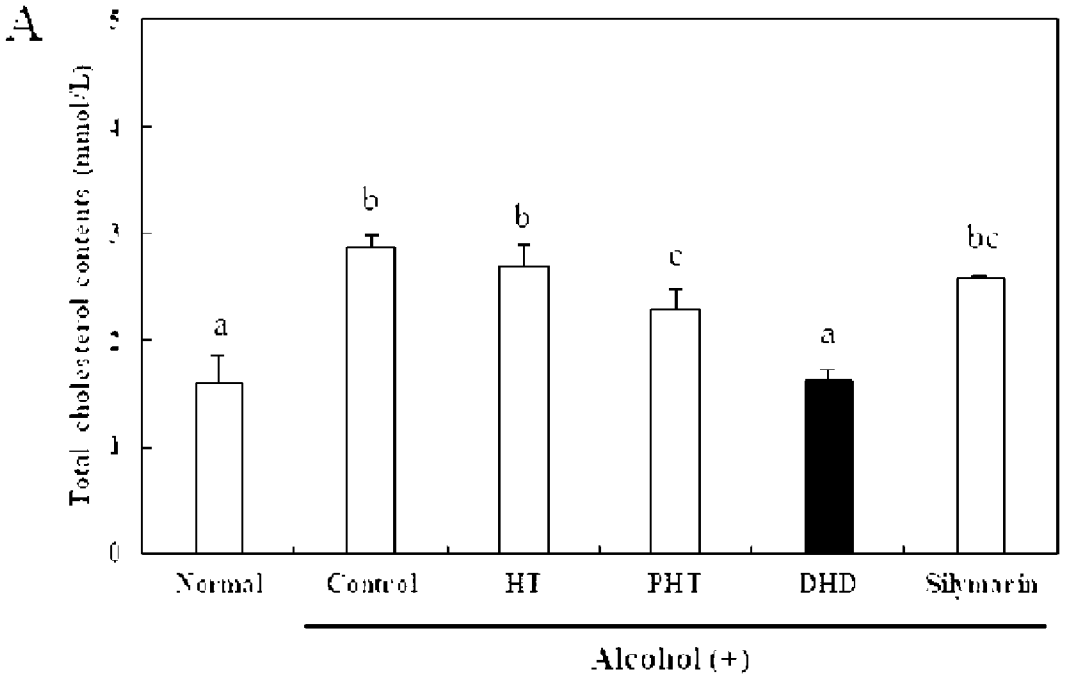
[120]

[121] H) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 혈중 total cholesterol, LDL-cholesterol,

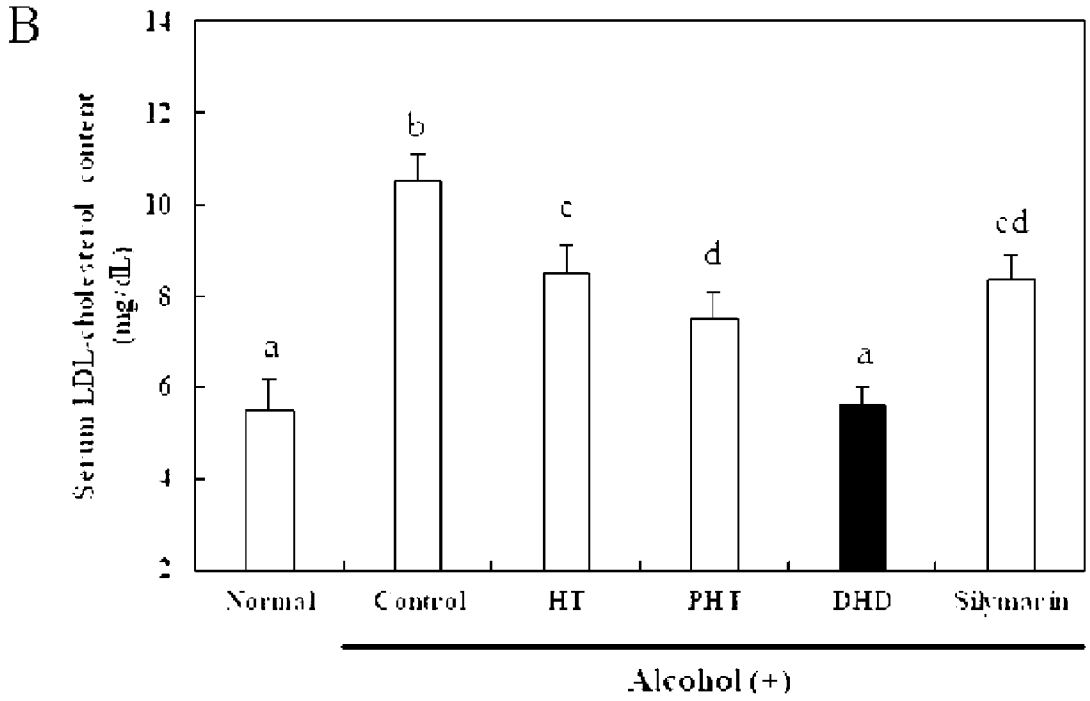
HDL-cholesterol 농도 변화

[122] 만성 알코올 투여 쥐에서의 혈중 total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol농도 결과는 아래 그림에 나타내었다. Total cholesterol 농도는 Control군과 비교했을 때 HT군, Silymarin군에서 유의적인 차이는 보이지 않았다. PHT군은 HT군과 유의적으로 감소한 것을 확인하였고, DHD군은 PHT군보다 유의적으로 낮은 total cholesterol 농도를 보였으며 Normal군과 비슷한 수치를 보였다. 혈중 LDL-cholesterol 농도의 경우 Control군에서 유의적으로 가장 높은 농도로 나타났고, HT군과 Silymarin군은 Control군과 유의적으로 낮은 농도를 보였다. PHT군은 HT군보다 유의적으로 낮은 수치로 나타났고, DHD군은 PHT군보다 유의적으로 낮은 농도를 보였다. 특히 DHD군은 Normal군과 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되었다. HDL-cholesterol 농도의 경우 Control군에서 가장 낮은 농도로 나타났고, HT군과 Silymarin군은 Control군은 유의적인 차이를 보이지 않았다. PHT군은 HT군과 Silymarin군과 유의적인 차이는 나지 않았지만 HDL-cholesterol 농도가 보다 증가한 것으로 확인되었고, Normal군과 비슷한 농도를 보였다. DHD군은 Normal군보다 유의적으로 높은 농도를 보였다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취는 total 및 LDL-cholesterol 농도를 낮추고 HDL-cholesterol 농도를 증가시키는 것으로 확인되었다.

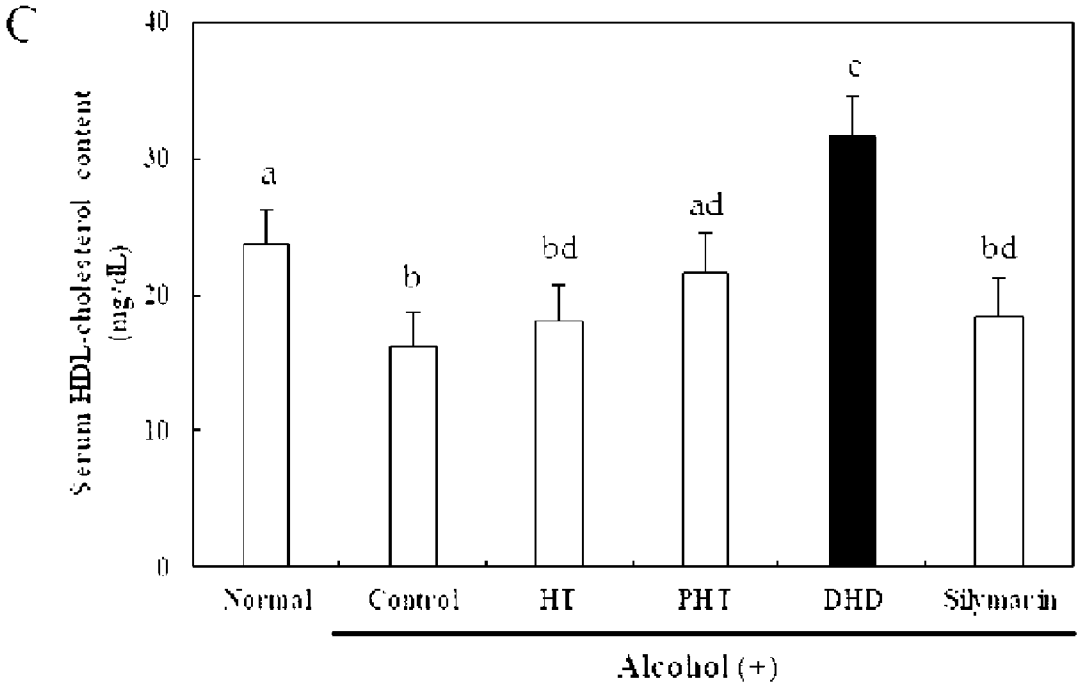
[123]



[124]



[125]



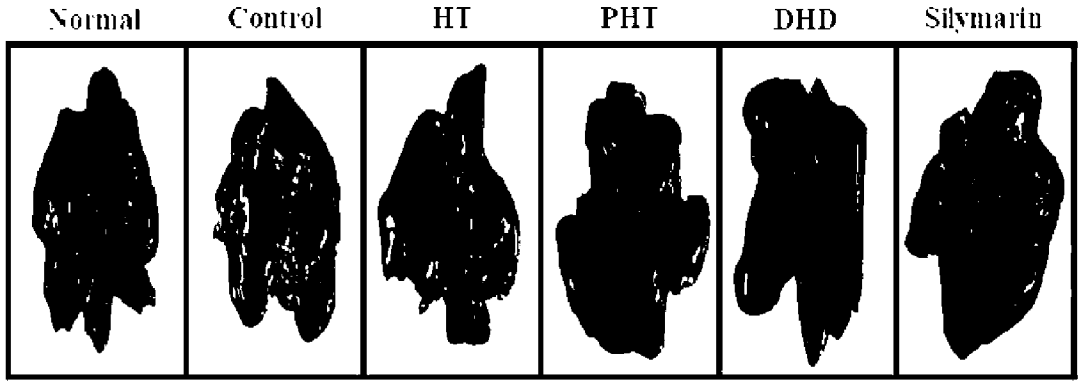
[126] **Fig. Effects of DHD on (A) total cholesterol, (B) LDL-cholesterol and (C) HDL-cholesterol content in serum in chronic ethanol-administered rats.** Data values were expressed as mean ± S.E. (n=6). Data values with different superscripts indicate significant difference ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

[127]

[128] I) 만성 알코올성 쥐 모델에서의 간 조직의 형태학적 및 H&E 염색 변화

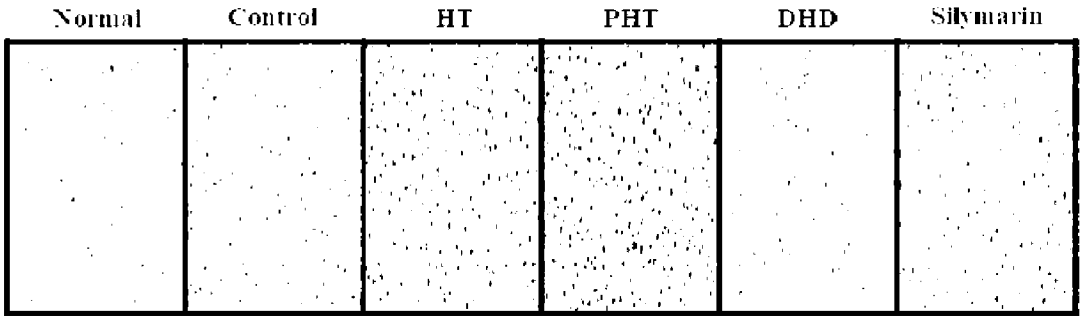
[129] 만성 알코올 투여 쥐에서 간 조직의 형태학적 및 H&E 염색 결과는 아래와 같다. 알코올에 의해 지방간이 형성되면 간의 색깔은 적갈색에서 황갈색으로 변하는데, Control군의 경우 지방간의 형성에 의해 황갈색으로 변한 것으로 나타났다. PHT군은 Control군과 HT군보다 적갈색을 띠는 것으로 나타났고, DHD군은 Normal군과 비슷한 진한 적갈색을 띠었다. H&E 염색 결과 Control군에서 많은 지방 방울이 나타났다. HT군은 Control군보다 지방 방울이 적은 것으로 확인되었고 PHT군은 HT군보다 지방 방울 형성이 적은 것으로 보인다. DHD군은 지방 방울이 거의 없는 것으로 나타났고 Normal군과 비슷한 형태를 보였다. 헛개열매 발효식초 음료의 섭취는 알코올성 지방간을 억제하는 것으로 판단된다.

[130]



[131] **Fig. Effects of DHD on liver tissue morphological change in chronic ethanol-administered rats.**

[132]



[133] **Fig. Effect of DHD on liver tissue morphology H&E (400x magnification) in chronic ethanol-administered rats.**

청구범위

[청구항 1] 숙취해소와 간보호 효능을 가지는 헛개열매 발효식초의 제조방법에 있어서,
상기 헛개열매 발효식초의 제조방법은 헛개열매를 이용하여 헛개열매 농축액을 만들고, 이를 16°Brix로 조절한 후, 10%(v/v)의 주모를 접종하여 온도 28~32℃에서 알코올발효 시킨 후 여과한 알코올 발효액 여액을 초산발효 기질로 사용하며,
상기 초산발효는 헛개열매의 알코올 발효액을 넣고 종초 10%(v/v)를 접종한 후 28~32℃의 온도에서 120~180rpm 조건에서 발효시키는 것을 특징으로 하는 숙취해소와 간보호 효능을 가지는 헛개열매 발효식초의 제조방법.

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 헛개열매 농축액은 세척한 헛개열매에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하여 농축시키는 것을 특징으로 하는 숙취해소와 간보호 효능을 가지는 헛개열매 발효식초의 제조방법.

[청구항 3] 제1항 또는 제2항에 있어서,
상기 알코올 발효는 균주 *Saccharomyces cerevisiae*(KCCM 11306)을 YM 평판배지에 계대배양 후, YM 액체배지에서 48시간 정치 배양하는 것을 특징으로 하는 숙취해소와 간보호 효능을 가지는 헛개열매 발효식초의 제조방법.

[청구항 4] 제1항 또는 제2항에 있어서,
상기 초산발효는 균주 *Acetobacter aceti*(KCCM 12654)을 물 100중량부에 mannitol 2~3중량부, peptone 0.1~0.5중량부 및 Yeast extract 0.3~0.8중량부를 혼합한 액체배지에서 30℃에서 48시간 배양하는 것을 특징으로 하는 숙취해소와 간보호 효능을 가지는 헛개열매 발효식초의 제조방법.

[청구항 5] 헛개열매 발효식초를 이용한 음료 조성물은 정제수 100중량부에 헛개열매 발효식초 0.5~7중량부, 헛개농축액 1~3중량부, 액상과당 10~15중량부, 프락토올리고당 1~5중량부, 사과농축액 0.5~1중량부, 무수구연산 0.1~0.2중량부, 효모추출분말 0.1중량부, 복합황금추출물 0.01~0.03중량부, 타우린 1~2중량부, 밀크시슬추출분말 0.01~0.10중량부 및 커큐민 0.01~0.05중량부를 포함하는 것을 특징으로 하는 헛개열매 발효식초를 이용한 음료 조성물.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2022/021334

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12J 1/04(2006.01)i; **A23L 2/38**(2006.01)i; **A23L 33/105**(2016.01)i; **C12G 3/02**(2006.01)i; **C12G 3/026**(2019.01)i; C12R 1/865(2006.01)n; C12R 1/02(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12J 1/04(2006.01); A23L 19/00(2016.01); A23L 33/00(2016.01); A23L 33/10(2016.01); A23L 33/105(2016.01); C12J 1/00(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 헛개나무(Hovenia dulcis Thunb), 열매(fruit), 발효식초(fermented vinegar), 알코올발효(alcoholic fermentation), 초산발효(acetic acid fermentation), 숙취(hangover)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2013-0105139 A (PURE NATURAL KOREA) 25 September 2013 (2013-09-25) See paragraphs [0003], [0006], [0008], [0009], [0013], [0014], [0016]-[0020], [0023] and [0024]; and table 3.	1-4
A		5
Y	KR 10-2016-0069530 A (SEROM CO., LTD.) 17 June 2016 (2016-06-17) See paragraphs [0005], [0029] and [0032].	1-5
Y	KR 10-2120144 B1 (FRIEND OF GREENBELT) 10 June 2020 (2020-06-10) See paragraphs [0014] and [0247]; and table 6.	5
Y	KR 10-2014-0137549 A (KOREA GINSENG BIO-SCIENCE CO., LTD. et al.) 03 December 2014 (2014-12-03) See paragraphs [0017], [0018] and [0043].	5

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 April 2023	**17 April 2023**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office **Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208**	
Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2012-0073505 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION OF SUNCHON NATIONAL UNIVERSITY) 05 July 2012 (2012-07-05) See entire document.	1-5
A	XIANG, Jinle et al. Effect of juice and fermented vinegar from Hovenia dulcis peduncles on chronically alcohol-induced liver damage in mice. Food & Function. 09 March 2012 (publication date), vol. 3, pp. 628-634. See entire document.	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2022/021334

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
KR 10-2013-0105139 A	25 September 2013	KR 10-1321470 B1	04 November 2013
KR 10-2016-0069530 A	17 June 2016	None	
KR 10-2120144 B1	10 June 2020	WO 2021-107233 A1	03 June 2021
KR 10-2014-0137549 A	03 December 2014	None	
KR 10-2012-0073505 A	05 July 2012	CN 103237465 A	07 August 2013
		KR 10-1183605 B1	17 September 2012
		WO 2012-091251 A1	05 July 2012

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2022/021334

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12J 1/04(2006.01)i; **A23L 2/38**(2006.01)i; **A23L 33/105**(2016.01)i; **C12G 3/02**(2006.01)i; **C12G 3/026**(2019.01)i; C12R 1/865(2006.01)n; C12R 1/02(2006.01)n

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12J 1/04(2006.01); A23L 19/00(2016.01); A23L 33/00(2016.01); A23L 33/10(2016.01); A23L 33/105(2016.01); C12J 1/00(2006.01)

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 헛개나무(Hovenia dulcis Thunb), 열매(fruit), 발효식초(fermented vinegar), 알코올발효(alcoholic fermentation), 초산발효(acetic acid fermentation), 숙취(hangover)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2013-0105139 A (주식회사 피엔케이) 2013.09.25 단락 [0003], [0006], [0008], [0009], [0013], [0014], [0016]-[0020], [0023], [0024]; 및 표 3	1-4
A		5
Y	KR 10-2016-0069530 A (주식회사 새롬) 2016.06.17 단락 [0005], [0029], [0032]	1-5
Y	KR 10-2120144 B1 (농업회사법인 주식회사 그린벨트의친구들) 2020.06.10 단락 [0014], [0247]; 및 표 6	5
Y	KR 10-2014-0137549 A (고려인삼과학(주) 등) 2014.12.03 단락 [0017], [0018], [0043]	5
A	KR 10-2012-0073505 A (순천대학교 산학협력단) 2012.07.05 문헌 전체	1-5

☑ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☑ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌
"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌
"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌
"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2023년04월17일(17.04.2023)	**2023년04월17일(17.04.2023)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 **+82-42-481-8578**

심사관

민인규

전화번호 **+82-42-481-3326**

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2022/021334

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	XIANG, JINLE 등, "Effect of juice and fermented vinegar from Hovenia dulcis peduncles on chronically alcohol-induced liver damage in mice", Food & Function, 2012년 3월 9일(공개일), 3권, 페이지 628-634 문헌 전체	1-5

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2022/021334

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2013-0105139 A	2013/09/25	KR 10-1321470 B1	2013/11/04
KR 10-2016-0069530 A	2016/06/17	없음	
KR 10-2120144 B1	2020/06/10	WO 2021-107233 A1	2021/06/03
KR 10-2014-0137549 A	2014/12/03	없음	
KR 10-2012-0073505 A	2012/07/05	CN 103237465 A	2013/08/07
		KR 10-1183605 B1	2012/09/17
		WO 2012-091251 A1	2012/07/05