



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0023092  
(43) 공개일자 2022년03월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A23L 33/105 (2016.01) A23L 29/00 (2016.01)  
A61K 36/605 (2006.01) A61K 36/82 (2006.01)  
A61P 1/16 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01)  
A61P 9/10 (2006.01) A61P 9/12 (2006.01)

(52) CPC특허분류  
A23L 33/105 (2016.08)  
A23L 29/065 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2020-0104597  
(22) 출원일자 2020년08월20일  
심사청구일자 2020년08월20일

(71) 출원인  
(사)천수산약초연구회  
경기도 성남시 분당구 성남대로 52, 801호(구미동)

(72) 발명자  
이창무  
경기도 성남시 분당구 구미로9번길 8, 317호(구미동, 세종그랑시아2차)

최호철  
경기도 용인시 기흥구 한보라2로 167, 901동 403호(공세동, 한보라마을휴먼시아9단지아파트)  
(뒷면에 계속)

(74) 대리인  
특허법인위더피플

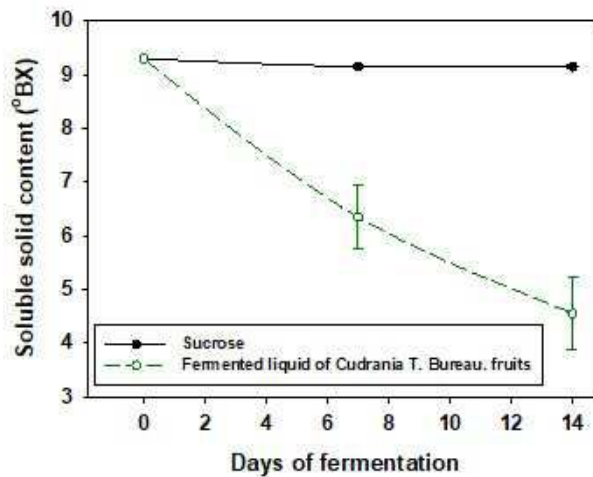
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법 및 대사증후군 관련 질환에서의 콤부차 발효액의 용도**

(57) 요약

본 발명은 꾸지뽕 발효액을 이용한 콤부차 음료의 제조 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법 및 상기 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

*A61K 36/605* (2013.01)  
*A61K 36/82* (2013.01)  
*A61P 1/16* (2018.01)  
*A61P 3/00* (2018.01)  
*A61P 9/10* (2018.01)  
*A61P 9/12* (2018.01)  
*A23V 2200/30* (2013.01)  
*A23V 2300/08* (2013.01)  
*A61K 2236/19* (2013.01)

(72) 발명자

**송경주**

경기도 용인시 처인구 한터로152번길 15, 205동  
904호(고림동, 예진마을인정피렌체빌리지II아파트)

**조미애**

경기도 용인시 처인구 양지면 은이로 85, 105동  
208호(양지포레스토리)

**조현임**

경기도 구리시 장자대로37번길 55, 106동 305호(교문동, 덕현아파트)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

(A) 엽차 추출액을 제조하는 단계; 및

(B) 상기 엽차 추출액에 꾸지뽕 발효액 및 스코비(symbiotic colony of bacteria & yeast, SCOBY) 균 첨가하여 발효시키는 단계

를 포함하는 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 엽차 추출액은 녹차 추출액, 홍차 추출액 및 우롱차 추출액 중 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 것인, 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 꾸지뽕 발효액은 b-1) 꾸지뽕 나무의 열매, 가지 또는 잎과 설탕수용액을 혼합하는 단계; 및 b-2) 상기 생성된 혼합물을 20 내지 30℃의 온도에서 2 내지 6개월 동안 발효시켜 꾸지뽕 발효액을 생성하는 단계에 의해 제조되는 것을 특징으로 하는 것인, 방법.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 스코비 균의 함량은 콤부차 발효액 전체 중량을 기준으로 5 내지 30 중량%인 것을 특징으로 하는 것인, 방법.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 발효는 24 내지 28℃에서 2일 이상 내지 15일 이하로 수행되는 것을 특징으로 하는 것인, 방법.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품으로,

상기 대사증후군 관련 질환은 비만, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화, 고인슐린혈증, 당뇨병 및 간질환으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 것인, 건강기능식품.

#### 청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 제조된 콤포지 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물로,

상기 대사증후군 관련 질환은 비만, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화, 고인슐린혈증, 당뇨병 및 간질환으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 것인, 약제학적 조성물.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 꾸지뽕 발효액을 이용한 콤포지 음료의 제조 방법 및 대사증후군 관련 질환에서의 콤포지 발효액의 용도에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 꾸지뽕을 이용한 콤포지 발효액의 제조 방법 및 상기 방법에 의해 제조된 콤포지 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0003] 최근 경제적 발전과 식습관 등의 변화에 따라 비만, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화, 고인슐린혈증, 당뇨병 또는 간질환 등 다양한 질환을 포함하는 대사증후군 관련 질환의 발병이 급증하고 있는 상황이다. 이와 같은 질환들은 각각 발생하기도 하지만 일반적으로는 서로 밀접한 관련을 맺고 있으면서 여러 증상을 동반하여 발생하는 경우가 대부분이다.

[0004] 비만의 원인으로는 유전적 요인, 환경적 요인, 대사적 요인 등이 있으며 종류로는 단순성 (1차성) 비만과 증후성 (2차성) 비만으로 나눌 수 있다. 1차성 비만은 영양 및 칼로리의 과다섭취와 운동 부족이 그 원인이며, 2차성 비만은 갑상선 기능 저하, 부신피질 호르몬 과다분비, 경구용 피임약, 신경안정제, 스테로이드 호르몬제, 항히스타민 성분이 포함된 약물 등이 원인이 된다고 알려져 있다. 비만은 당뇨병, 고혈압, 동맥 경화증, 고지혈증, 심혈관 질환, 지방간 등의 성인병과 각종 대사 장애의 원인이 되는 것으로 알려져 있을 뿐만 아니라, 그 자체로도 비만으로 야기된 지방 조직에 의해 복부에 압박이 가해져 변비와 소화불량, 위장장애 등을 일으키는 경우가 많다. 비만을 치료하고 예방하는 방법은 여러 나라에서 활발하게 다각적인 측면에서 연구되고 있는데 현재 실행되고 있는 방법으로 음식물의 섭취량을 억제하여 에너지소비를 줄이는 식이요법, 운동을 통해 에너지를 발산시키는 운동요법, 장기의 일부를 절제하거나 지방 흡입술과 같은 수술요법 그리고 에너지 대사 촉진제, 식욕억제제, 소화흡수 억제제 등을 사용하는 약물요법이 있다. 그러나 현재까지는 비만을 치료하는 방법 중 완전한 방법은 없으며 이러한 방법을 중단하였을 때 다시 체중이 증가되는 요요현상이 나타나거나 식이제한에 의한 영양불균형, 면역력 저하에 의한 감염 등 여러 가지 부작용이 나타나고 있다. 특히 약물요법의 경우, 우울증, 불면증, 소화 장애 등 그 부작용이 다양하게 보고되고 있다. 따라서, 이러한 전통적인 방법 이외에 체중감소를 촉진하는 효과적이며 안전한 방법의 개발이 절실히 요구되고 있다.

[0005] 고지혈증은 혈중 콜레스테롤과 같은 지질성분이 증가하면서 혈액의 흐름이 원활하지 않게 되고 동맥벽에 지질성분들이 부착되면서 만성적인 염증반응을 일으키게 되고 동맥내벽이 좁아지면서 혈관이 굳어지는 동맥경화가 유발되고 장기적으로는 이로부터 생성된 혈전이 심장관상동맥이나 뇌혈관 등을 막아 심근경색, 뇌졸중이나 뇌경색 등을 일으키는 원인이 된다. 현재 고지혈증치료제는 간에서의 콜레스테롤의 합성과정에 중요한 역할을 하고 있는 에이치엠지코에이 리덕테이즈 (HMG-CoA reductase)를 억제활성을 갖고 있는 '스타틴' 계열의 약물들이 사용되고 있는데 장기간 사용할 경우 간독성이나 근육독성 등의 부작용이 있는 것으로 알려져 있다.

[0006] 고혈압은 동맥의 혈압이 만성적으로 높은 상태로서, 18세 이상의 성인에서 수축기 혈압이 140 mmHg 이상이거나 확장기 혈압이 90 mmHg 이상인 경우를 말하며, 비만 등에 의해 발생하기도 한다. 현재 고혈압 치료제는 레닌 저해제 약물, 안지오텐신전환효소 활성 저해 약물, 안지오텐신과 안지오텐신 수용체간의 결합을 저해하는 약물들이 개발되어 있으나, 여전히 보다 효과적인 치료제의 개발의 필요성이 대두되고 있다.

[0007] 동맥경화는 콜레스테롤, 인지질, 칼슘 등을 함유한 지방성 물질 (plaque)이 혈관 내막에 축적되어 동맥은 단단해져 탄력성을 잃고 좁아져서 혈액공급이 저해되거나 압력이 높아져 동맥이 파열, 박리 등이 일어나는 상태를 말한다. 현재 동맥경화 치료제로 HMG-CoA reductase 저해제인 다양한 스타틴 (statin)류 등이 개발되어 있으나,

여전히 보다 효과적인 치료제의 개발의 필요성이 대두되고 있다.

- [0008] 고인슐린혈증은 혈중 인슐린치가 높은 상태로서, 교감 신경 활성화 향진이나 신장에 있어서의 나트륨 흡수 등을 촉진시키는 등 비만 또는 당뇨병 등에 수반되는 질병으로, 부작용이 적고 체중증가 등을 유발하지 않으면서, 동시에 효과적으로 인슐린 수치를 낮출 수 있는 치료제에 대한 개발의 필요성이 절실히 요구되고 있다.
- [0009] 당뇨병은 인슐린이 부족하거나 인슐린에 대한 감수성이 떨어져 탄수화물대사에 이상이 생기는 질환으로서 두 가지 유형이 있다. I형은 전에는 연소 당뇨병이라 부르던 인슐린의존성 당뇨병(insulin-dependent diabetes mellitus/IDDM)으로, 인슐린 주사가 필요하다. 이는 췌장에서 인슐린이 분비되지 않기 때문에 주사를 통해 인슐린을 공급해주어야 한다. II형은 성인형 당뇨병이라 일컬어지던 인슐린비의존성 당뇨병 (non-insulin-dependent diabetes mellitus/NIDDM)으로, 식이요법으로 조절이 가능하다. 이것은 췌장의 인슐린 분비 기능이 떨어지거나 인슐린에 대한 조직의 거부반응에서 비롯되며, 베타세포가 인슐린을 분비하는 데 일어나는 미묘한 변화로 인해 더욱 악화된다. 2종의 당뇨병을 이전에는 연소 당뇨병과 성인형 당뇨병으로 분류했지만, 2종 모두 어느 나이에서나 발생할 수 있다. 그렇지만 전체 당뇨병 환자 중 90%를 차지할 정도로 인슐린비의존성 당뇨병이 훨씬 더 흔하다. 인슐린의존성 당뇨병 즉, 타입 1(I형) 당뇨병의 치료 방법으로는 현재까지 인슐린 주사가 거의 대부분이다. 한편, 종래 인슐린비의존성 당뇨병 즉, 타입 2(II형) 당뇨병을 치료하기 위한 물질로서는 PPAR- $\gamma$  활성화제, GLP-1 유도제, DPP-IV 저해제, PTP1B 저해제 등이 주요 당뇨병 치료제들로서 개발되어 있으나 이러한 종래의 약제들은 각각의 기작에 기인한 부작용을 보이고 있다. 예를 들어, 간이나 신장, 근육 및 심장에 대한 독성과 함께 체중증가 증상 등이 대표적인 부작용이라 할 수 있다. 따라서, 부작용이 적고 체중증가 등을 유발하지 않으면서, 동시에 효과적으로 당뇨병을 치료 또는 예방할 수 있는 당뇨병 치료제에 대한 개발의 필요성이 절실히 요구되고 있다.
- [0010] 간은 영양소 대사의 중심 역할을 하는 장기로 정상적인 사람의 간은 약 1,500g의 무게를 가지며 간 기능의 이상이 초래되면 생체의 영양소 대사에 문제를 유발하여, 포도당을 글리코겐으로 만들거나 또는 단백질을 알부민으로 전환하거나 불필요한 것을 분해하여 쓸개즙으로 전달하는 등의 간의 기능에 이상이 생긴다. 정신적 휴식을 가질 경우 경미한 간 손상의 경우, 간세포는 다시 복구될 수 있지만, 바쁜 현대사회에서는 휴식을 취할 여유를 가질 수 없어서 간질환이 가중되기도 한다. 일반적으로 간에 염증이 생기는 간염이 간질환의 대부분을 차지하며, 양상에 따라 급성 간염과 만성 간염, 원인에 따라 바이러스성 간염, 알코올성 간염, 약물성 간염 등으로 나눌 수 있다. 이런 이상으로 유발되는 간질환에는 지방간, 간염, 간경변증, 간암 등이 있다. 운동이나 금주, 식이요법 등과 약물 치료 등을 병행해서 간질환을 치료하고는 있지만, 근본적으로 완전히 치유가 되기는 어렵기 때문에 효과적이고 개선된 간질환 치료제 또는 보호제의 개발이 계속적으로 필요하다.
- [0011] 아울러, 최근 경제발전에 따른 생활수준의 향상으로 인하여 위생환경이 개선되고 식생활의 향상으로 섭취열량 또한 급속한 증가가 이루어지고 있는 반면, 운동은 부족하고 소비되는 열량은 적어 체내에 과도한 영양분의 축적 등으로 인한 각종 성인병의 발생이 증가하고 있다. 이와 같은 성인병 중 특히 지방간은 과도한 지방이나 알코올 섭취, 간의 지방합성 증가, 중성지방 배출 및 연소 감소 등으로 인하여 간에 지방이 축적되어 발생하며, 일반적으로 간에서 축적된 지방의 비중이 5%이상일 때 지방간으로 정의된다.
- [0012] 지방간에서 축적된 지방의 대부분은 중성지방 (triglyceride)이며, 지방간은 크게 과음으로 인한 알코올성 지방간과 비만, 당뇨병, 고지혈증 또는 약물 등으로 인한 비알코올성 지방간으로 나눌 수 있다. 알코올성 지방간은 알코올을 과다 섭취하여 간에 지방 합성이 촉진되고 정상적인 에너지 대사가 이루어지지 않아 발생하게 된다. 일부에서는 지방간이 단순히 간에 지방이 축적되는 현상 정도로 생각하고 있으나, 알코올성 지방간으로 판명된 환자의 50%, 비알코올성 지방간으로 판명된 환자의 30%는 간경변으로 발전한다는 사실을 고려할 때, 지방간은 매우 심각한 간질환의 하나라고 보아야 할 것이다. 현재 지방간을 약물학적으로 치료하는데 유용한 약제는 거의 없는 상태이며 운동과 식이요법만이 권장되고 있으나, 실제로 이러한 방법에 의한 지방간의 치료효율은 매우 낮아 유효한 치료제 개발이 요구된다. 지방간이 당뇨병 및 비만상태에서 관찰되는 세포의 인슐린 저항성과 관련성이 있다고 확인되면서 일부 메트폴민 (metformin)과 같은 혈당 강하제가 지방간 치료에 효과가 있는 것으로 보고되었으나, 상기 약물은 간 독성 또는 젖산증과 같은 부작용을 유발한다는 문제점이 있다. 이외에 대체 약물보조요법으로서 베타인 (betaine), 글루쿠로네이트 (glucuronate), 메티오닌 (methionine), 콜린 (choline) 및 친지방 (lipotropic) 제제가 보조적으로 이용되기도 하지만, 이들에 대한 의약학적 근거가 완전히 증명된 것은 아니다. 따라서, 효과가 탁월하면서도 부작용을 유발하지 않는 안전한 지방간 치료제의 개발이 절실한 실정이다.

[0014] 한편, 콤부차는 국내에서는 홍차버섯으로 알려진 박테리아와 효모의 공생균사체에 의해 발효되어 얻어지는 발효 음료로 주로 홍차와 설탕을 주원료로 한다. 콤부차는 고대 중국의 진나라로부터 기원되었으며, 해독작용과 강장 효과가 높아 "신성한 차"로 불렸다고 하며, 이후 서기 414년경에 한국을 거쳐 일본으로 전해졌으며 현재는 주로 러시아 지역을 중심으로 "Tea Kvass"라는 이름으로 불리며 많이 음용되고 있다. 콤부차의 생리활성 및 공공보건에 미치는 영향과 관련하여 많은 연구가 진행되고 있으며, 대표적으로 활성산소 생성억제를 통한 항산화력, 항균성, 항암성, 상처치료 효과, 간기능 보호 등의 다양한 생리활성이 보고되어 있다. 특히, 콤부차는 콜레스테롤 수치를 건강한 수준으로 유지할 수 있는 것으로 알려져 있다. 2008년 고콜레스테롤 상태의 쥐를 대상으로 한 콤부차의 콜레스테롤 혈중 및 항산화 효과에 연구 결과, 콤부차가 만들어질 때 배양되는 핵심 균주인 글루콘아세트박테리아 (*gluconacetovacter*)가 DSL이라고 불리는 D-당산(D-saccharic acid)과 4-락톤(4-lactone) 성분을 생산하는데 이들은 콜레스테롤 혈중에 중요한 역할을 하며, 이로 인해 콜레스테롤 수치를 건강하게 유지하고 비만 치료에도 유용할 수 있음이 확인되었다.

[0016] 또한, 꾸지뽕나무 (*Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bureau ex Lavallee)는 속명으로서 꾸지뽕나무, 굿가시나무, 활뽕나무라 불리며 뽕나무과에 속하는 낙엽교목이다. 꾸지뽕나무의 뿌리껍질, 나무줄기, 나무껍질 및 잎에는 인체에 유효한 다양한 성분이 포함되어 있어서, 전래로부터 꾸지뽕나무는 그 뿌리, 껍질, 줄기, 잎, 나무껍질, 열매 등 부위에 따라 혈압강하제, 결핵치료제, 해열제, 건해제, 거담제, 이뇨제, 지혈제, 거풍제 등의 약제로 이용되었으며, 항진균제로서 무좀에 사용하고 소화기관의 허약에 의한 만성소화불량에 이용되고 있다. 또한 꾸지뽕나무의 열매는 취과로 등글며 지름이 2.5cm 내외이며, 9월~10월에 적색으로 성숙하며, 과육은 달고 식용이 가능하다. 그 열매에는 비타민 B, B1, B2, 비타민 C, 리놀레인산, 포도당, 말토스, 프럭토스, 사과산, 레몬산 등 유용한 유기물질이 포함되어 있으며, 줄기 껍질에는 폐암, 대장암, 피부암, 자궁암 등에 효과가 높은 성분이 다량 함유되어 있다고 보고되고 있다. 꾸지뽕나무는 항암효과가 있는 것으로 알려진 플라노보이드를 함유하고 있어서, 약제로 사용되고 있음이 동의보감, 약성감, 본초강목 등에서 고대로부터 널리 알려져 있다.

[0017] **선행기술문헌**

**특허문헌**

- [0018] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 등록특허공보 제10-0482308호
- (특허문헌 0002) 2. 대한민국 공개특허공보 제10-2015-0124258호
- (특허문헌 0003) 3. 대한민국 등록특허공보 제10-1797813호

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0019] 본 발명자들은 본 발명자들은 다양한 대사질환에 대한 문제점들을 감안하여 비만, 고지혈증 및 당뇨병 등을 포함하는 대사증후군 관련 질환에 부작용이 없고 효과적인 천연 물질을 개발하고자 예의 노력한 결과, 설탕 (sucrose) 대신에 꾸지뽕 발효액을 사용하는 경우 저당도, 저칼로리를 가지면서도 시트르산, 시키미산, 및 아세트산과 같은 유기산, 페놀성 화합물, 안토시아닌 및 플라노보이드의 함량이 높아 건강한 단맛을 내는 콤부차를 제조할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

[0021] 본 발명은 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0022] 본 발명은 또한 상기 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0023] 본 발명은 또한 상기 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로

포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0024] 본 발명은 또한 상기 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0025] 본 발명은 또한 상기 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선용 사료첨가제 또는 사료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0027] 본 발명은 (A) 엽차 추출액을 제조하는 단계; 및 (B) 상기 엽차 추출액에 꾸지뽕 발효액 및 스코비(symbiotic colony of bacteria & yeast, SCOBY) 균 첨가하여 발효시키는 단계를 포함하는 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법을 개시한다.

[0028] 본 명세서에서 사용된 용어, "콤부차(kombucha)"는 녹차, 홍차 또는 우롱차를 우린 물에 설탕 대신 꾸지뽕 발효액을 넣고, 스코비(symbiotic colony of bacteria & yeast, SCOBY) 균을 첨가한 뒤 발효시켜 만드는 음료를 의미한다. 콤부차는 면역력 및 위장건강 증진, 체내 독소의 배출 및 해독, 간 건강 증진, 활성산소 배출 등의 효과를 나타낼 수 있다. "스코비(symbiotic colony of bacteria & yeast, SCOBY)"는 유산균 및 효모균의 공생 배양물을 의미한다. 상기 스코비는 배양된 것 또는 시판된 것을 모두 사용할 수 있으며, 통상의 기술분야에 스코비를 이용하여 콤부차를 제조하는 방법이 잘 알려져 있다.

[0029] 본 명세서에서 사용된 용어 "추출물"은 상기 엽차의 추출물을 의미한다. 상기 추출물은 각 성분의 분쇄물을 건조 중량의 약 5 내지 30배, 바람직하게는 약 10 내지 20배에 달하는 부피의 물, 메탄올, 에탄올 등과 같은 탄소수 1(C1) 내지 4(C4)의 저급 알콜과 같은 극성 용매 또는 이들의 약 1:0.1 내지 1:10의 혼합비를 갖는 혼합용매로 용출할 수 있으며, 추출 온도는 20℃ 내지 100℃, 바람직하게는 60℃ 내지 100℃에서, 추출기간은 약 1시간 내지 4일 동안 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출, 여과 추출 또는 초음파 추출 등의 추출방법을 사용하여 추출한 추출물일 수 있으며, 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 또는 이들 조정제물 또는 정제물을 모두 포함할 수 있다.

[0031] 본 발명은 또한 상기 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 (예를 들면, 건강음료 조성물), 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물, 상기 약제학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료 방법, 및 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선용 사료첨가제 또는 사료용 조성물을 개시한다.

[0032] 본 명세서에서 사용된 용어 "대사증후군 관련 질환"은 대사에 문제가 있어서 발생하는 다양한 질환을 통칭하는 것으로, 대사성 질환이라고도 한다. 본 발명의 대사증후군 관련 질환은 상기 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액을 유효성분으로 치료 또는 예방할 수 있는 질환은 제한 없이 포함되나, 그 예로 비만, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화, 고인슐린혈증, 당뇨병 및 간질환으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 질환일 수 있다.

[0033] 본 명세서에서 사용된 용어 "예방"은 조성물의 투여로 대사증후군 관련 질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0034] 본 발명의 용어, "개선"이란, 상기 조성물의 투여로 대사증후군 관련 질환이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0035] 본 명세서에서 사용된 용어 "치료"란 조성물의 투여로 대사증후군 관련 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0036] 본 명세서에서 사용된 용어 "개선"은 조성물의 투여로 대사증후군 관련 질환의 증상을 완화시키는 효과를 나타내는 모든 행위를 위한다.

**발명의 효과**

[0038] 본 발명의 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 따르면 콤부차 제조시 sucrose 대신에 꾸지뽕을 첨가하여 저당도, 저칼로리를 가지면서도 시트르산, 시키미산, 및 아세트산과 같은 유기산, 페놀성 화합물, 안토시아닌 및 플라보노이드의 함량이 높아 건강한 단맛을 내는 콤부차를 제조할 수 있음을 확인하였다. 따라서, 본 발명에 따른 콤부차는 대사증후군 관련 질환을 위한 건강기능식품 및 약제학적 조성물로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

**도면의 간단한 설명**

[0040] 도 1은 실시예 3에 따른 콤부차의 당도 변화를 나타내는 그래프이다.  
 도 2는 실험에 4에 따른 콤부차의 pH 변화를 나타내는 그래프이다.  
 도 3은 실험에 5에 따른 콤부차의 스코비 생성량을 나타내는 그래프이다.  
 도 4는 실험에 6에 따른 콤부차의 총페놀성 화합물의 함량을 나타내는 그래프이다.  
 도 5은 실험에 7에 따른 콤부차의 총안토시아닌 함량을 나타내는 그래프이다.  
 도 6은 실험에 8에 따른 콤부차의 총플라보노이드 함량을 나타내는 그래프이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0041] 본 발명은 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법, 상기 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방, 개선 및 치료용 건강기능식품, 약제학적 조성물, 사료첨가제 및 사료 조성물을 제공하고자 한다.

[0043] 제1구현예에 따르면,

[0044] 본 발명은 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법을 제공하고자 하는 것으로, 상기 방법은:

[0045] (A) 엽차 추출액을 제조하는 단계; 및

[0046] (B) 상기 엽차 추출액에 꾸지뽕 발효액 및 스코비(symbiotic colony of bacteria & yeast, SCOBY) 균 첨가하여 발효시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0047] 본 발명에 따른 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 있어서, 상기 엽차 추출액은 녹차 추출액, 홍차 추출액 및 우롱차 추출액 중 어느 하나 이상인 것을 특징으로 한다.

[0048] 본 발명에 따른 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 있어서, 상기 상기 꾸지뽕 발효액은 b-1) 꾸지뽕 나무의 열매, 가지 또는 잎과 설탕수용액을 혼합하는 단계; 및 b-2) 상기 생성된 혼합물을 20 내지 30℃의 온도에서 2 내지 6개월 동안 발효시켜 꾸지뽕 발효액을 생성하는 단계에 의해 제조되는 것을 특징으로 한다. 상기 설탕수용액은 꾸지뽕 나무의 열매, 가지 또는 잎의 중량을 기준으로 20 내지 30 중량%의 양으로 첨가될 수 있다. 필요에 따라, 상기 꾸지뽕 발효액의 제조시 스타터 균주가 첨가될 수 있다. 예를 들면, 상기 스타터 균주는 페디오코커스 펜토사세우스 (*pediococcus pentosaceus*)와 락토바실루스 브레비스 (*lactobacillus brevis*)를 포함할 수 있다.

[0049] 본 발명에 따른 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 있어서, 상기 스코비 균의 함량은 콤부차 발효액 전체 중량을 기준으로 5 내지 30 중량%, 바람직하게는 10 중량%의 양으로 첨가되는 것을 특징으로 한다.

[0050] 본 발명에 따른 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 있어서, 상기 발효는 24 내지 28℃에서 2일 이상 내지 15일 이하로 수행되는 것을 특징으로 한다.

[0051] 본 발명에 따른 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 있어서, 상기 콤부차 발효액은 대사증후군 관련 질환에 우수한 효과를 갖는 것을 특징으로 한다. 예를 들면, 상기 대사증후군 관련 질환은 비만, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화, 고인슐린혈증, 당뇨병 및 간질환으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 질환일 수 있다.



- [0053] 제2구현예에 따르면,
- [0054] 본 발명은 상기 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤부차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하고자 한다.
- [0055] 본 명세서에서 사용된 용어 "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강 기능 식품 및 건강 식품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.
- [0056] 본 명세서에서 사용된 용어 "건강 기능(성) 식품(functional food)"은 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 상기 "기능(성)"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 본 발명의 건강기능식품은 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.
- [0057] 상기 건강 식품(health food)은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)은 건강보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강 기능 식품, 건강 식품, 건강보조식품의 용어는 혼용된다.
- [0058] 구체적으로, 상기 건강기능식품은 본 발명의 콤부차 발효액을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.
- [0059] 본 발명의 건강기능식품은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선에 대하여 높은 효과를 기대할 수 있으므로, 매우 유용하게 사용될 수 있다.
- [0060] 상기 건강기능식품은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다.
- [0061] 또한, 상기 건강기능식품은 식품 제조에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크롬(Cr) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.
- [0062] 또한, 상기 건강기능식품은 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(dulcin, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.
- [0063] 본 발명의 콤부차 발효액은 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 식품 조성물은 식품 또는 음료에 대하여 50 중량부 이하, 구체적으로 20 중량부 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

- [0064] 본 발명의 건강기능식품의 일 예로 건강음료 조성물로 사용될 수 있으며, 이 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강음료 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 구체적으로 약 0.02 ~ 0.03 g이 될 수 있다.
- [0065] 상기 외에 건강음료 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강음료 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0066] 본 발명의 건강기능식품은 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선 효과를 나타낼 수 있다면 다양한 중량%로 포함할 수 있으나, 구체적으로 본 발명의 추출물을 식품 조성물의 총 중량 대비 0.00001 내지 100 중량% 또는 0.01 내지 80 중량%로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0068] 제3구현예에 따르면,
- [0069] 본 발명은 상기 꾸지뽕을 이용한 콤포사 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤포사 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공하고자 한다.
- [0070] 본 발명의 약제학적 조성물은 총 조성물의 중량 대비 상기 추출물을 0.0001 내지 50 중량%로 포함할 수 있으며, 구체적으로 0.01 중량% 내지 10 중량%로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0071] 상기 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있고, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occurring carrier)를 포함할 수 있다. 상기 용어 "약학적으로 허용가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다.
- [0072] 구체적으로, 상기 약제학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명에서, 상기 약제학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 슈크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 슈크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0074] 제4구현예에 따르면,
- [0075] 본 발명은 상기 꾸지뽕을 이용한 콤포사 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤포사 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하고자 한다.

- [0076] 본 명세서에서 사용된 용어 "투여"는 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미한다.
- [0077] 본 명세서에서 사용된 용어 "개체"는 대사증후군 관련 질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 구체적인 예로, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.
- [0078] 본 발명의 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료 방법에서, 상기 조성물을 투여하는 투여 경로 및 투여 방식은 특별히 제한되지 않으며, 목적하는 해당 부위에 상기 조성물을 포함하는 조성물이 도달할 수 있는 한 임의의 투여 경로 및 투여 방식에 따를 수 있다. 구체적으로, 상기 조성물은 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있으며, 그 투여 경로의 비제한적인 예로는, 구강, 직장, 국소, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 경피, 비측내 또는 흡입 등을 통하여 투여되는 것을 들 수 있다.
- [0080] 제5구현예에 따르면,
- [0081] 본 발명은 상기 꾸지뽕을 이용한 콤포차 발효액의 제조 방법에 의해 제조된 콤포차 발효액을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 개선용 사료첨가제 또는 상기 사료첨가제를 포함하는 사료용 조성물을 제공하고자 한다.
- [0082] 본 명세서에서 사용된 용어 "사료첨가제"는 영양소 보충 및 체중감소 예방, 사료 내 섬유소의 소화 이용성 증진, 유질 개선, 번식장애 예방 및 수태율 향상, 하절기 고온 스트레스 예방 등 다양한 효과를 목적으로 사료에 첨가하는 물질을 포함한다. 본 발명의 사료첨가제는 사료관리법상의 보조사료에 해당하며, 탄산수소나트륨, 벤토나이트(bentonite), 산화마그네슘, 복합광물질 등의 광물질제제, 아연, 구리, 코발트, 셀레늄 등의 미량 광물질인 미네랄제제, 케로틴, 비타민 E, 비타민 A, D, E, 니코틴산, 비타민 B 복합체 등의 비타민제, 메티오닌, 리이산 등의 보호아미노산제, 지방산 칼슘염 등의 보호지방산제, 생균제(유산균제), 효모배양물, 곰팡이 발효물 등의 생균, 효모제 등이 추가로 포함될 수 있다.
- [0083] 본 명세서에서 사용된 용어 "사료"는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분으로, 본 발명에 따른 대사증후군 관련 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 유효성분으로 포함하는 사료는 당업계의 공지된 다양한 형태의 사료로 제조가능하며, 바람직하게는 농후사료, 조사료 및/또는 특수사료가 포함될 수 있다.
- [0084] 본 발명에 따른 사료 조성물은 대사증후군 질환의 예방 또는 치료를 목적으로 하는 개체이면 특별히 한정되지 않고, 어떠한 것이든 적용가능하다. 예를 들면, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트, 랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소 등과 같은 비인간동물, 조류 및 어류 등 어느 개체에도 적용이 가능하다.
- [0086] 이하, 실시 예를 통해서 본 발명을 보다 상세히 설명하기로 한다. 하지만, 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것일 뿐 본 발명의 권리범위가 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0088] <실시예>
- [0089] 실시예 1. 꾸지뽕을 이용한 콤포차의 제조
- [0090] 우선, 증류수를 끓인 후 실온에서 식혔다. 그 다음, 홍차 3g을 상기 끓여 식힌 증류수 900mL에 넣고 1시간 동안 우려낸 후, 홍차를 제거하였다. 그 다음, 상기 홍차 우려 물에 35.5%의 꾸지뽕 발효액 (당도 35.5° Bx)을 첨가하여 당도를 9.3%로 맞추고, 발효 효모 스코비를 전체 중량의 10% 중량비로 첨가하였다. 거름종이 No.2를 4겹의 거즈로 말아 뚜껑을 덮고 고무줄로 움직이지 않도록 고정하였다. 25℃ 실온에 보관하면서 일주일 간격으로 품질 특성 및 기능성분을 조사하였다. 실험에 사용할 모든 시료는 0.2 $\mu$ m hydrophillic filter로 여과한 후, 1ml 바이알에 분주하여 냉동 및 냉장보관하면서 성분분석, 인체 직장세포 및 비만세포에 미치는 영향을 분석하였다. 모든 실험은 3반복으로 진행하였다.
- [0092] 비교예 1. sucrose를 이용한 콤포차의 제조
- [0093] 꾸지뽕 발효액 대신에 sucrose를 첨가한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법을 이용하여 콤포차를 제

조하였다.

[0095] <실험예>

[0096] 실험예 1. 콤포차의 유리당 분석

[0097] 유리당 분석은 하기의 조건에 따라 콤포차 시료에 증류수를 이용하여 10배 희석하여 액체크로마토그래피로 분석하고, 그 결과를 하기의 표 1에 나타내었다.

[0098] 기기 : Dionex ultimate 3000 (Thermo Dionex, USA / pump, autosampler, oven)

[0099] Detector : Shodex RI-101(Shodex, japan)

[0100] Column : Sugar-pak (Waters, 300\*6.5mm, USA)

[0101] Oven : 70℃

[0102] 용매 : 3차 DW, flow : 0.5ml/min, Injection volume : 10uL

[0103] 운영소프트웨어 : Chromeleon Ver.6

표 1

Treatment	Sucrose (mg · L <sup>-1</sup> )		
	시험당일	7일째	14일째
비교예 1	93689.77 ± 355.77	88092.54 ± 893.15	90035.52 ± 190.08
실시예 1	740.92 ± 1.08	1359.53 ± 92.60	977.22 ± 85.40
Treatment	Glucose (mg · L <sup>-1</sup> )		
	시험당일	7일째	14일째
비교예 1	-	-	-
실시예 1	34378.85 ± 40.17	17137.38 ± 2408.96	7854.47 ± 3239.81
Treatment	Fructose (mg · L <sup>-1</sup> )		
	시험당일	7일째	14일째
비교예 1	-	-	-
실시예 1	44412.13 ± 74.60	22463.97 ± 5285.68	6707.94 ± 2676.68

[0106] 실험예 2. 콤포차의 유기산 분석

[0107] 상기 실시예 1 및 비교예 1에 따른 시료 5g에 D.W.을 15mL 첨가하였다. 그 다음 0.2µm hydrophilic filter (Sartorius, Germany)로 여과하였다. 유기산 분석은 하기의 조건으로 액체크로마토그래피하였다.

[0108] 컬럼 : Aminex 87H column (300x10mm, Bio-Rad, USA)

[0109] 기기 : Ultimate3000 (Thermo Dionex, USA)

[0110] 검출기 : RI(ERC, RefractoMAX520, Japan), UV 210nm

[0111] 이동상 : 0.01N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5N 용액 희석하여 사용/ Fluka, USA)

[0112] Flow : 0.5ml/min

[0113] Oven Tem : 40℃

[0114] Injection volumn : 10uL

[0115] 분석시간 : 30min(5-HMF, furfural 추가 시 90min)

[0116] 분석항목 : citric, shikimic, Fumaric, lactic, Acetic acid

표 2

[0118]

Organic acid	days of fermentation	Content (mg · L <sup>-1</sup> )	
		비교예 1	실시예 1
Citric acid	0	10.76±1.86	1228.09±1.10
	7	58.86±1.82	1528.64±59.47
	14	67.69±0.58	1703.08±24.37
Shikimic acid	0	7.27±0.42	15.64±0.05
	7	8.43±0.43	18.08±0.36
	14	8.81±0.36	19.57±0.41
Fumaric acid	0	0.65±0.03	0.90±0.04
	7	1.59±0.10	2.51±0.38
	14	1.75±0.10	0.97±0.03
Lactic acid	0	0±0.00	670.78±1.07
	7	35.00±0.66	514.16±17.60
	14	33.64±2.90	303.84±6.22
Acetic acid	0	248.82±0.63	538.22±2.41
	7	2836.48±85.05	8683.54±697.56
	14	5643.33±390.35	31267.48±524.01

[0120] 상기 표 2로부터 알 수 있듯이, 본 발명에 따른 실시예 1의 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액 내의 시트르산, 시키미산, 및 아세트산의 함량은 비교예 1의 콤부차 발효액에 비해 증가한 것으로 확인되었다.

[0122] 실험예 3. 콤부차의 당도 변화

[0123] 상기 실시예 1 및 비교예 1에 따른 콤부차의 발효 기간에 따른 당도변화를 확인하고, 그 결과를 하기의 표 3 및 도 1에 나타내었다.

표 3

[0124]

Sample Name	Soluble solid content (° Bx)		
	day 1	day 7	day 14
비교예 1	9.30±0.00	9.15±0.029	9.15±0.029
실시예 1	9.30±0.00	7.40±0.606	5.70±0.664

[0126] 상기 표 3으로부터 알 수 있듯이, 본 발명에 따른 실시예 1의 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 당도는 비교예 1의 콤부차 발효액에 비해 현저히 감소한 것으로 확인되었다.

[0128] 실험예 4. 콤부차의 pH 변화

[0129] 상기 실시예 1 및 비교예 1에 따른 콤부차의 발효 기간에 따른 pH변화를 확인하고, 그 결과를 하기의 표 4 및 도 2에 나타내었다.

표 4

[0130]

Sample Name	pH		
	day 1	day 7	day 14
비교예 1	4.10±00.032	3.05±0.046	2.91±0.003

실시예 1	3.55±0.014	2.833±0.012	2.73±0.006
-------	------------	-------------	------------

[0131] 상기 표 4로부터 알 수 있듯이, 본 발명에 따른 실시예 1의 꾸지뽕을 이용한 콤부차 발효액의 pH는 비교예 1의 콤부차 발효액에 비해 유의하게 감소한 것으로 나타났다.

[0133] 실험예 5. 콤부차의 스코비 생성량 비교

[0134] 상기 실시예 1 및 비교예 1에 따른 콤부차의 발효 기간에 따른 스코비 생성량 변화를 확인하고, 그 결과를 하기의 표 5 및 도 3에 나타내었다.

표 5

Sample Name	Weight of SCOBY(g)	
	day 1	day 14
비교예 1	41.77±0.087	93.32±1.311
실시예 1	41.93±0.023	102.29±0.191

[0137] 상기 표 5로부터 알 수 있듯이, 본 발명의 실시예 1에 따른 콤부차의 스코비 생성량은 비교예 1에 따른 스코비 생성량에 비해 현저히 증가한 것으로 확인되었다.

[0139] 실험예 6. 콤부차의 페놀성 화합물 함량 분석

[0140] 상기 실시예 1 및 비교예 1에 따른 콤부차의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 방법 (Amerine & Ough, 1980)에 따라 시료 0.1mL, 증류수 8.4mL, 2 N Folin-Ciocalteu agent (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, USA) 0.5mL, 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1mL를 혼합하여 1시간 반응시킨 후 725nm에서 분광광도계를 통해 흡광도 값을 측정하였다. 페놀화합물 함량은 표준물질인 gallic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하여 상기의 방법으로 작성한 표준곡선으로 양을 환산하였고, 추출물 중의 mg gallic acid equivalent(GAE, dry basis)로 나타내었다.

표 6

Sample Name	Total phenolic compound (v g/mL)		
	day 1	day 7	day 14
비교예 1	45.63±0.68	15.07±0.73	44.99±0.62
실시예 1	68.66±0.93	59.30±3.82	62.26±1.43

[0142] 그 결과, 상기 표 6으로부터 알 수 있듯이, 본 발명의 실시예 1에 따른 콤부차의 페놀성 화합물의 함량은 비교예 1에 따른 콤부차의 페놀성 화합물에 비해 50% 이상 증가하였으며, 특히 발효 7일 차에는 비교예 1에 따른 콤부차의 페놀성 화합물에 비해 약 4배 이상 증가하는 것으로 확인되었다 (도 4).

[0144] 실험예 7. 콤부차의 안토시아닌 함량 분석

[0145] 상기 실시예 1 및 비교예 1에 따른 콤부차의 총 안토시아닌 함량(TAC)은 pH-differential 방법에 의해 분석하였다 (Giusti and Wrolstad, 2001). 1mL 시료 용액을 10mL 플라스크로 옮기고, 한 플라스크는 potassium chloride buffer (pH 1.0)로 조절하고 다른 하나는 sodium acetate buffer (pH 4.5)로 조절하여 각각 희석하였다. 이 희석액을 15분 동안 평형 상태로 둔다. 블랭크로 증류수를 셀에 채워 510 및 700nm 에서 흡광도를 측정하였다. 다음의 계산식으로 총안토시아닌 함량을 계산하였다.

[0146] Total anthocyanin (mg/liter) = (A × MW × DF × 1000) / (ε × l)

[0147] A = (A520 - A700) pH 1.0 - (A520 - A700) pH 4.5

- [0148] MW= 449.2 (cyanidin-3-glucoside 분자량)
- [0149] DF= 4 (회석배수)
- [0150] 1000 = g을 mg으로 변환하는 상수
- [0151]  $\epsilon = 26,900(\text{molar absorptivity}); l = \text{pathlength in cm}$

**표 7**

Sample Name	Total Anthocyanins (mg/L)		
	day 1	day 7	day 14
비교예 1	0.384±0.117	0.301±0.158	0.451±0.069
실시예 1	1.770±0.184	1.854±0.316	1.386±0.418

[0153] 그 결과, 상기 표 7로부터 알 수 있듯이, 본 발명의 실시예 1에 따른 콤포차의 안토시아닌의 함량은 비교예 1에 따른 콤포차의 안토시아닌의 함량에 비해 4배 이상 증가하였으며, 특히 발효 7일 차에는 비교예 1에 따른 콤포차의 페놀성 화합물에 비해 약 6배 이상 증가하는 것으로 확인되었다 (도 5).

[0155] 실험예 8. 콤포차의 플라보노이드 함량 분석

[0156] 상기 실시예 1 및 비교예 1에 따른 콤포차의 총 플라보노이드 함량은 카테킨을 표준품으로 사용하여 aluminium trichloride 방법으로 측정 하였다 (Zhishen et al., 1999). 125 $\mu$ l의 시료를 75L의 5% NaNO<sub>2</sub> 용액에 첨가한 후, 혼합물을 6분 동안 방치한 후, 150 $\mu$ l의 aluminium trichloride (10%)을 첨가하고 5분 동안 인큐베이션 한 다음, 750 $\mu$ l의 NaOH (1M)를 첨가하였다. 증류수를 사용하여 용액의 최종 부피를 2500L로 조정 하였다. 인큐베이션 15분 후, 혼합물은 분홍색으로 변한다. 흡광도는 510nm에서 측정되었다. 총 플라보노이드 함량은 g E 카테킨 · 100g<sup>-1</sup>DM으로 계산하였다.

**표 8**

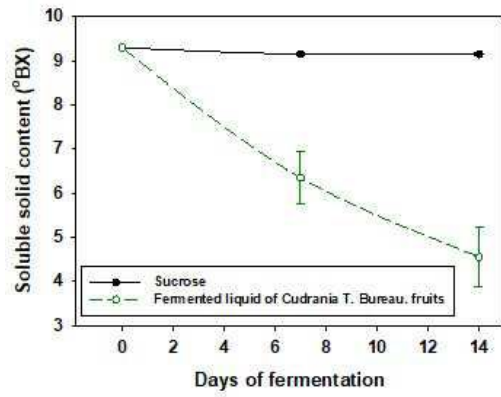
Sample Name	Total Flavonoids (mg/L)		
	day 1	day 7	day 14
비교예 1	21.15±0.38	20.03±0.20	19.87±0.15
실시예 1	26.43±0.35	24.59±0.73	23.47±0.23

[0159] 그 결과, 상기 표 8로부터 알 수 있듯이, 본 발명의 실시예 1에 따른 콤포차의 플라보노이드 함량은 비교예 1에 따른 콤포차의 플라보노이드의 함량에 비해 현저히 증가하는 것으로 확인되었다 (도 6).

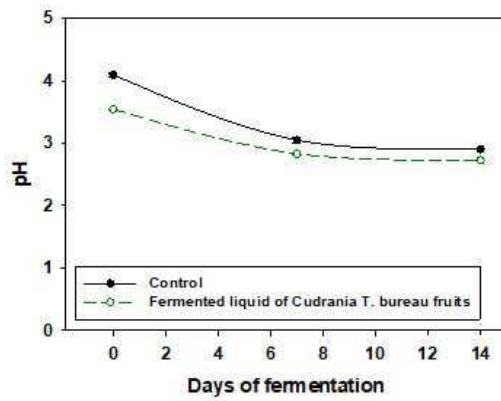
[0161] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시태양일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

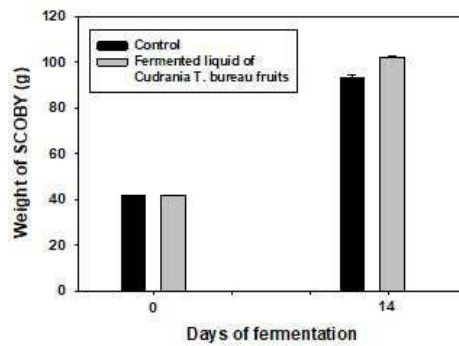
도면1



도면2

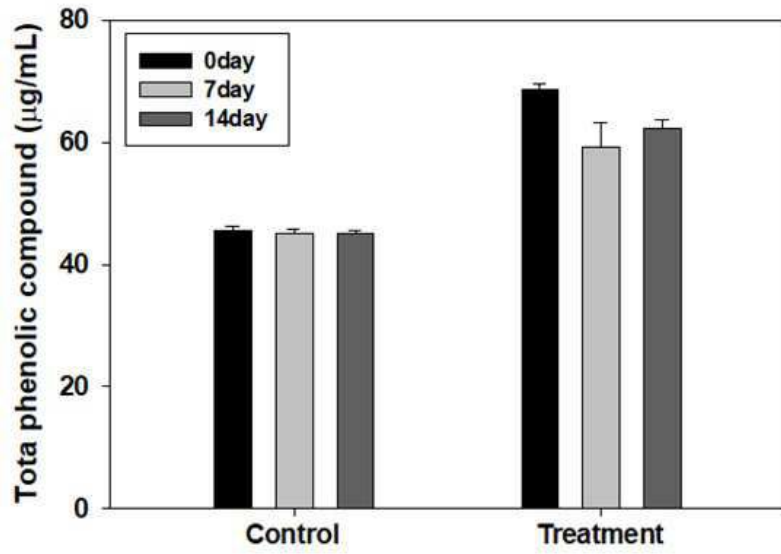


도면3

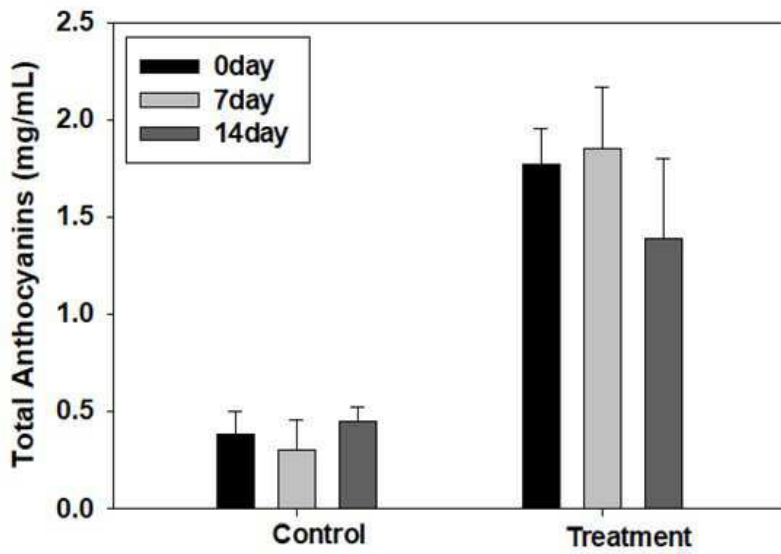




도면4



도면5



도면6

