



Research Article

Anti-fatigue effect of a beverage mixture containing red ginseng and *Prunus mume* fruit vinegar on high-intensity exercised rats

홍삼과 매실식초 혼합 음료의 고강도 운동을 실시한 흰쥐에서 항피로 효과

Wool-Lim Park¹, Jeong-Ho Kim², Kwon-Il Seo^{1*}

박울림¹ · 김정호² · 서권일^{1*}

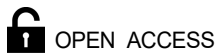
¹Department of Food Biotechnology, Dong-A University, Busan 49315, Korea

²Suncheon Research Center for Bio Health Care, Suncheon 57922, Korea

¹동아대학교 식품생명공학과, ²순천바이오헬스케어연구센터

Abstract New types of vinegar drinks are being processed and developed using various raw materials. In this study, a beverage containing a mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar (RPV) was evaluated for its anti-fatigue effect on high-intensity exercised rats. RPV administration markedly enhanced running endurance and significantly decreased fatigue-related serum biomarkers, such as inorganic phosphate, ammonia, and L-lactate, compared to the other groups. In addition, RPV administration increased glycogen contents in the liver and muscles and decreased creatine kinase activity in the serum and muscles. RPV administration also remarkably increased the activity of lactate in the muscles. Furthermore, HPLC analysis revealed that main organic acids in RPV were acetic acid, malic acid, and citric acids. Overall, the results indicate that RPV improved fatigue recovery in exhausted rats, thus proving a promising material of functional food to attenuate fatigue.

Keywords anti-fatigue, high-intensity exercise, *Prunus mume* fruit, red ginseng, vinegar



Citation: Park WL, Kim JH, Seo KI. Anti-fatigue effect of a beverage mixture containing red ginseng and *Prunus mume* fruit vinegar on high-intensity exercised rats. Korean J Food Preserv, 30(3), 514-525 (2023)

Received: March 27, 2023

Revised: May 11, 2023

Accepted: May 12, 2023

*Corresponding author

Kwon-Il Seo
 Tel: +82-51-200-5788
 E-mail: kseo@dau.ac.kr

Copyright © 2023 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

피로란 과도한 육체적·정신적 작업에 수반해서 발생하는 병적인 감각이 동반되는 신체 기관의 기능이 감퇴된 상태를 의미한다(Bal, 1979; Kim, 1997). 현대인의 경우, 과도한 노동과 정신적 스트레스 및 신체적 활동으로 인한 피로물질의 축적, 신체기능의 저하 및 균형파괴 등 다양한 생리현상으로 피로에 지속적으로 노출되고 있다(Shin 등, 2008). 규칙적이고 적절한 운동은 체내 항산화 방어시스템을 활성화시켜, 유리라디칼로부터의 손상을 감소시키고, 대사를 원활하게 한다(Kang 등, 2014). 그러나 과도한 운동은 다량의 에너지를 소모시키면서 체내 산화적 스트레스의 유발, 피로물질 및 지질과산화물의 축적, 에너지의 감소 등을 초래하여 피로의 원인이 되며, 이에 따라 인체는 에너지원 보충, 축적된 대사산물의 제거 및 신체 변화 개선을 위해 영양보충과 수면, 휴식이 요구된다(Kumar, 1992; Park, 1995). 따라서 운동 및 일상생활에서 오는 축적된 피로를 빠르게 회복시켜줄 수 있는 보조식품에 대한 연구는 중요

하다고 할 수 있다.

피로유발에 관련된 인자로는 암모니아(ammonia), 젖산(L-lactate) 및 글리코젠(glycogen) 등이 알려져 있으며, 이 물질들은 피로도 및 생리적 운동능력 지표로 사용된다(Xu 등, 2013). 또한, 탈진상태에 이르기까지의 운동시간은 항피로 효과를 직접적으로 평가하는 지표로 고강도 운동 시 체내 전해질, 에너지 및 체액의 막대한 손실을 일으킨다고 알려져 있으며, 무기인산과 젖산, 암모니아 같은 피로 물질들을 축적시켜 세포 내 산증과 근육의 피로를 발생시킨다(Cho, 2017; Kim, 2015; Robergs, 2004). 또한 운동으로 인한 근육의 과부하시 세포막과 조직 파괴 등이 일어나면서 혈중 creatine kinase(CK) 농도가 증가하는 경향이 있다(Banfi 등, 2010). Lactate dehydrogenase(LDH)는 가역적 반응을 촉매하는 당분해의 산화환원효소로 젖산을 피루브산으로 전환하여 젖산의 대사를 촉진시킨다(Zheng 등, 2018). 글리코젠은 포도당 중합체로서 주로 골격근과 간에서 존재하지만, 다양한 조직에서도 합성·저장되며, 주로 근육세포에서 에너지를 신속하게 생성할 수 있는 메커니즘에 필수적인 자원으로 작용한다(Ortenblad 등, 2013).

매실(*Prunus mume*)은 매화나무의 과실로 우리나라의 전국 각지에서 식·약용으로 애용되고 있는 낙엽교목이다(Ko 등, 2007). 본초강목, 명의별록 등의 한의서에서 따르면 매실은 하열에 의한 갈증, 만성기침, 혈변, 만성 설사, 급성복통 및 구토를 치료한다고 기록되어 있고, 다량의 무기질과 citric acid, malic acid 및 succinic acid 등의 유기산이 함유된 강력한 알칼리 식품으로 노화예방, 숙취해소, 피로회복, 항균 및 변비 효과가 있다고 알려져 있다(Ko, 2007; Paik, 2010; Sheo, 1990). 특히 매실은 젖산생성억제, 운동수행 시 체내 신진대사 활성화, 노폐물 제거 등에 효과가 있다고 보고되어 있다(Park, 1990). 따라서 매실의 이러한 기능과 관련하여 피로회복 효능에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

식초는 오랜 역사를 갖는 특유의 신맛과 방향을 가진 대표적인 발효식품 중 하나로서 초산을 주성분으로 다양한 유기산과 아미노산, 당류 및 미네랄을 포함하고 있다(Jeong, 1996; Jeong, 1998; Johnston, 2008; Lim, 2010). 식초는 혈중지질 감소(Fushimi, 2006), 피로회복 촉진(Fushimi 등, 2005), 운동 시 지방산화의 증대(Ryu와 Kwon, 2009),

젖산분해 촉진(Kim 등, 2013), 체지방 감소(Lee 등, 1999) 및 동맥경화와 고혈압 등 심혈관계 질환 예방(Sung 등, 2013) 등의 효과를 가지는 것으로 확인되었다. 또한, 식초의 다양한 효능이 보고되면서 단순한 조미료가 아닌 기능성 식품으로서 주목받고 있다(Jeong 등, 1998).

홍삼(red ginseng)은 수삼(*Panax ginseng*)을 증자하고 건조시킨 것으로 한방에서 애용되어 왔고, 주로 진세노사이드(ginsenoside) Rg1, Rg3, Rb1을 다량 함유하고 있어 국내 건강기능식품으로 이용되고 있다(Kim, 2007; Kim, 2017). 현재까지 보고된 홍삼의 생리활성은 동맥경화 예방(Uemura 등, 1980), 혈당강하(Yokozawa 등, 1984), 간 기능 회복(Uemura 등, 1980), 면역력 증강(Ha 등, 1986), 항피로, 운동수행능력 증대, 항산화 및 항암효과가 확인되었다(Chu와 Chen, 1990). 홍삼의 단독처리에 의한 피로회복 및 운동능력 향상에 대한 연구는 이루어져 있으나, 매실 식초와의 혼합물에 대한 항피로 연구 및 이의 기능성 식품소재화를 위한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 피로회복 효능이 있는 매실을 주 원료로 발효한 매실식초와 홍삼의 혼합물에 대한 고강도 운동을 실시한 흰쥐 모델에서 지구력 증진 및 생화학적 지표 물질의 관찰을 통해 상승된 피로회복 효과를 갖는 기능성 식품소재화에 있어 기초 자료로서 활용하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 연구에서 사용된 매실(*Prunus mume*)은 순천에서 재배된 것을 구입하여 농업회사법인 순천엔매실(주)에 의뢰하여 농축액을 제조하였고, 배 농축액은 (주)이에스기술연구소에서 구입하였다. 홍삼 농축액은 (주)한국인삼공사에서 원료를 구입하여 실험에 사용하였다.

2.2. 홍삼매실식초 혼합 음료 제조

매실식초는 Kim 등(2020)의 방법으로 제조하였다. 매실농축액 30 mL와 증류수 750 mL를 혼합한 후 배 농축액으로 보당하여 16 °Brix로 조정하였다. 초기 혼합액에 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM 11306(5%, v/v)을 접종하여 30°C, 2일 동안 발효한 후 Adventec 110 mm

No. 2 여과지(Toyo Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 여과하여 매실 알코올 발효원액을 얻었다. 매실 알코올 발효원액에 *Acetobacter aceti* KCCM 12654(10%, v/v)를 접종하여 30°C, 200 rpm, 10일 동안 발효 후 1,700 ×g, 5분 동안 원심분리하여 상등액을 취하여 매실식초를 실험에 사용하였다. 최적 배합을 설정하기 위해 5% 매실식초 희석액에 홍삼농축액 0.25%(w/v) 함량으로 혼합하여 홍삼매실식초 혼합 음료를 제조하였다.

2.3. 홍삼매실식초 혼합 음료의 유기산 함량

5% 매실식초액(PFV), 0.25% 홍삼농축액(RG) 및 홍삼매실식초 혼합 음료(RPV)는 0.45 μm membrane filter (Advantec, Japan)로 여과 후 분석하였다. 유기산 분석은 high-performance liquid chromatography(Model Prominence, Shimadzu Co., Kyoto, Japan), 유기산 분리는 PL Hi-Plex H 컬럼(7.7×300 mm, Agilent CO., Santa Clara, CA, USA)을 사용하여 65°C에서 수행되었다. 이동상은 5 mM H₂SO₄로 구성되었고, flow rate 0.6 mL/min으로 일정하게 유지되었고 각 시료는 20 μL로 injection시켰다. 검출기(RI model RID-10A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)의 Refractive Index를 이용하여 표준 유기산의 retention time과 비교하여 시료 내 각 유기산과 일치하는 피크를 확인하여 동정하였다.

2.4. 동물실험 모델

2.4.1. 실험동물 사육

실험동물은 4주령 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 효창사이언스(Daegu, Korea)에서 구입하였다. 동물 사육환경은 항온(22±2°C), 항습(50±5%) 및 12시간 간격의 광주기로 유지하였고, 난괴법으로 비운동군(sedentary control, SC), 운동군(exercised control, EC), 홍삼농축액군(exercised with 0.25% red ginseng extract, RG), 매실식초군(exercised with 5% *Prunus mume* fruit vinegar, PFV), 홍삼매실식초 혼합 음료군(exercised with 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar mixture beverage, RPV)으로 각 6마리씩 나누어 1주일간 고형식으로 적응시킨 후 사용하였다. SC군과 EC군은 고강도 운동에 대한 효과를 확인하기 위해 설정하

였다. 본 실험에서 고형식사와 식수는 자유롭게 공급되었으며, 모든 시료의 경구량은 성인의 무게를 60 kg으로 가정하여 1일 섭취량 100 mL를 랫트의 투여량으로 변환계산하여 10.4 mL/kg으로 경구투여하였고, 비운동군과 운동군은 동량의 증류수를 투여하였다. 각 시료의 투여는 4주 동안 매일 같은 시간(10:00)에 1회 6일 동안 경구투여하였고, 시료 투여 30분 후 고강도 운동을 프로그램에 따라 진행하였다(Table 1). 동물실험은 동아대학교 동물실험 윤리심의에 의거하여 실시하였다(DIACUC-21-4).

2.4.2. 운동 프로그램 및 지구력 측정

비운동군을 제외하고 나머지 군은 트레이드밀(Treadmill DJ-344, Daejong Instrument Industry, Seoul, Korea)을 통해 주 5회씩 4주 동안 동일한 시간대에 점진적 부하 운동을 진행하였다. 운동 프로그램은 1주부터 4주까지 각각 20 m/min 10분, 25 m/min 20분, 30 m/min 20분, 35 m/min 30분으로 강도를 증가시켰다. 4주간의 프로그램이 끝난 후, 모든 군은 40 m/min으로 달리게 하고 트레이드밀 끝부분의 전기판에 10초 이상 움직이지 않고 멈춰있을 때를 탈진으로 판단하여, 운동 부하 후 탈진까지의 달린 시간을 측정하여 지구력을 평가하였다. 탈진한 쥐는 ethyl ether로 마취시켜 희생시킨 뒤 하대정맥에서 채혈하여 2시간 동안 상온에서 방치한 후 2,500 ×g에서 20분 동안 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 간 및 비복근을 수집하고 식염수로 헹군 후 실험에 사용하였다. 모든 샘플은 -80°C deep freezer에 보관하였다.

2.5. 피로 관련 바이오마커 측정

2.5.1. 혈청 지표분석

혈청 내 ammonia(K370-100)와 inorganic phosphate(K410-500) 농도는 Biovision kit(Biovision Inc., Milpitas,

Table 1. Gradual loaded exercise program

Program	Duration (week)			
	1	2	3	4
Speed (m/min)	20	25	30	35
Time (min)	10	20	20	30
Frequency (days/week)	6	6	6	6

CA, USA)를 사용하여 측정하였고, L-lactate 농도는 lactate assay kit(ECLC-100, Bioassay Systems, Hayward, CA, USA)를 이용하여 확인하였다.

2.5.2. 간 및 근육 내 glycogen 함량 분석

Glycogen 함량은 Cho 등(2016)의 방법에 따라 분석하였다. 간 및 근육 조직 0.2 g에 400 μ L 30% potassium hydroxide 용액과 반응시키고, 30분간 끓인 후 25°C에서 냉각시킨다. 그 다음 1 mL ethanol을 혼합물에 첨가하고 6,000 \times g, 4°C, 15분 동안 원심분리하였다. 그 후 상등액을 제거하고 pellet을 0.5 mL distilled water와 혼합한 후, 0.2% anthrone 용액을 가하여 glucose를 가수분해하였다. 최종적으로 spectrophotometer(Spectramax Plus 384, Molecular Devices Crop., Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 620 nm로 흡광도를 측정하였다.

2.5.3. 근육 및 혈청 내 creatine kinase(CK) 및 lactate dehydrogenase(LDH) 측정

젖산 대사와 관련된 근육 바이오마커를 평가하기 위해 쥐의 뒷다리 비복근을 이용하였다. 100 mM potassium phosphate buffer 5 mL를 근육조직 0.1 g에 첨가한 후, 시료를 균질화하였다. 균질액을 10,000 \times g, 4°C, 15분 동안 원심분리하여 상등액을 분석에 사용하였고, 혈청은 그대로 사용하였다. 근육 내 CK(ECPK-100) 및 LDH(D2DH-100) 활성과 혈청 내 CK 활성은 colorimetric kit(Bioassay Systems, Hayward, CA, USA)를 사용하여 측정하였다.

2.6. 통계처리

모든 데이터는 평균 및 표준편차로 표시하였고, Statistic Analysis System(Software 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용해 Duncan's multiple range test로 각 실험군 간의 유의성 검증을 나타내었다($p < 0.05$).

3. 결과 및 고찰

3.1. 홍삼매실식초 혼합 음료의 유기산 함량

유기산은 식초의 감칠맛과 신맛에 중요한 영향을 주며, 특히, 초산발효 중 초산균에 의해 생성되는 acetic acid는 식초의 주요 성분이며, 체내에서 흡수된 음식물이 에너지화

될 때 유산의 과잉생성을 억제하여 피로회복에 도움을 준다(Furukawa와 Udea, 1963; Yang, 1999). 유기산의 조성을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. RG는 malic acid만 검출된 반면, PFV와 RPV는 citric acid, malic acid, succinic acid 및 acetic acid가 검출되었다. 특히 RPV의 유기산 함량은 citric acid(600.12 ppm), malic acid(617.28 ppm), succinic acid(18.08 ppm), acetic acid(1,654.17 ppm)로 나타났으며, 주요 유기산은 acetic acid, malic acid 및 citric acid로 상대적으로 높은 수치로 확인되었다(Table 2). Park과 Kyung(1991)은 사과산, 구연산, 젖산 등의 유기산은 당 또는 아미노산과 반응하여 갈변화를 촉진시킨다고 보고하였고, Bae 등(2000)은 유기산 중 일부는 갈변반응에 의해 함량이 증가한다고 보고하였다. 홍삼 추출물 내 glucose, fructose, xylose 같은 당류와 aspartic acid, lysine, phenylalanine, glutamic acid 등과 같은 아미노산이 다량 확인되었다(Lee 등, 1998). 본 연구에서 대부분 유기산 함량은 RPV에서 RG와 PFV보다 증가한 수치를 보였는데, 이는 5% 매실식초액 내 유기산과 0.25% 홍삼농축액의 당 또는 아미노산과 갈변화 등의 화학적 반응으로 인한 증가로 사료된다.

3.2. 지구력 향상에 미치는 영향

항피로 효과의 직접적인 평가지표인 지구력을 확인한 결과는 Fig. 2와 같다. EC군은 SC군보다 유의적으로 지구력이 증가하였으며, RPV군의 운동시간은 138.83 min으로 RG 및 PFV군보다 각각 14.42 및 23.96% 증가한 것으로 나타났다(Fig. 2). Guan 등(2022)은 D-glucuronic acid, fructose-1,6-bisphosphate, malic acid 및 oxalacetic acid는 에너지원으로 사용될 수 있다고 하였으며, Cho 등(2017)은 유기산을 다량 함유한 오이식초의 섭취가 탈진한 흰쥐의 지구력을 강화시킬 수 있다고 보고하였다. 본 결과에서 운동군인 EC군은 비운동군인 SC군보다 유의적으로 지구력이 증가하였는데, 이는 고강도 운동 훈련의 효과로 사료된다. 또한, RPV를 섭취한 쥐의 지구력이 가장 높은 것으로 확인되었는데, 이는 malic acid, acetic acid 등의 유기산을 다량 함유한 홍삼매실식초 혼합 음료가 지구력을 강화시킨 것으로 판단되나, 이후 연구에서 항피로 관련 지표물질의 분석과 물질대사 등의 심도 있는 연구가 요구될

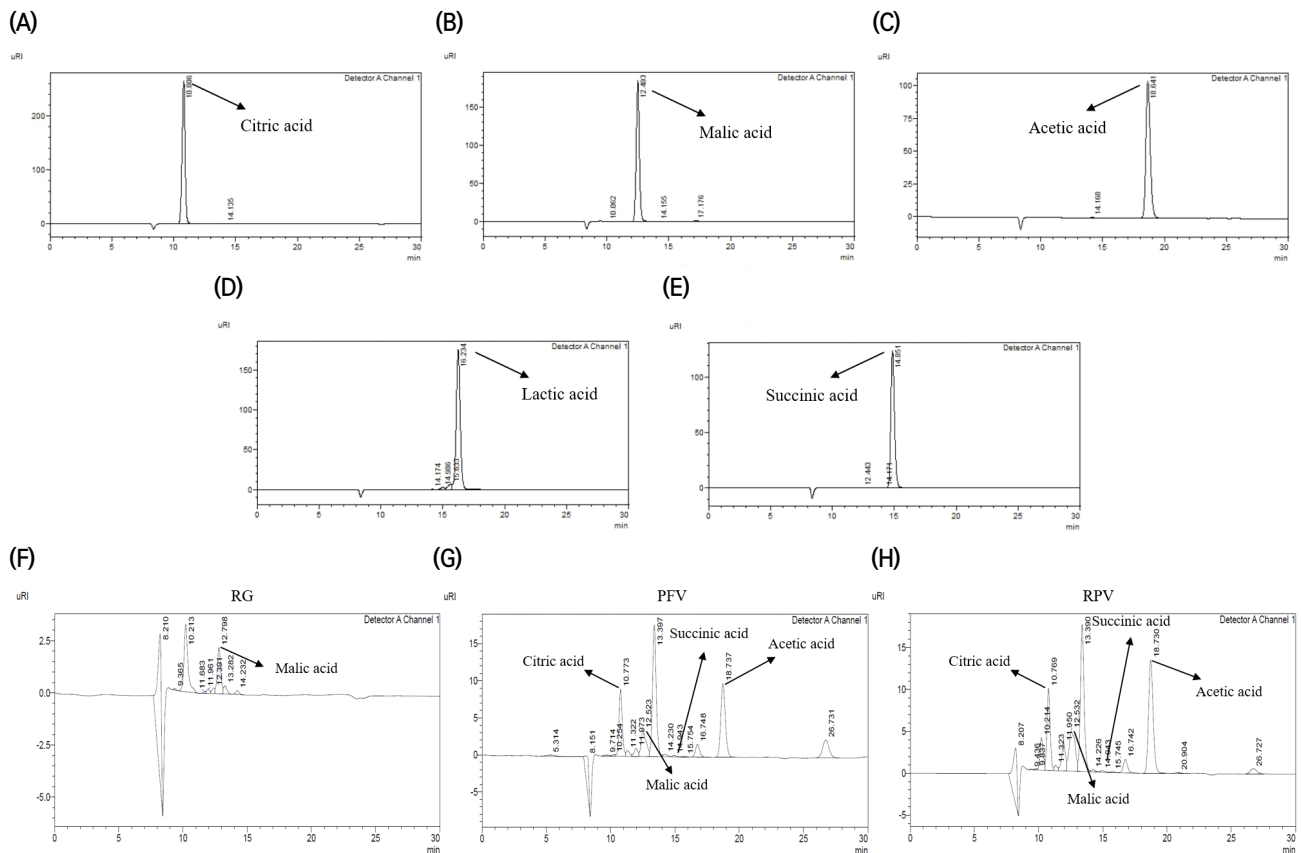


Fig. 1. Organic acids in a beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar (RPV). (A) Citric acid (10.806 min), (B) malic acid (12.493 min), (C) acetic acid (18.641 min), (D) lactic acid (16.234 min), (E) succinic acid (14.851 min). Organic acids in (F) RG, (G) PFV and (H) RPV.

Table 2. Organic acid contents in a beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar (RPV)

Sample	Contents (ppm)				
	Citric acid	Malic acid	Acetic acid	Lactic acid	Succinic acid
RG ¹⁾	ND ⁴⁾	164.11±23.18	ND	ND	ND
PFV ²⁾	562.05±19.21 ⁵⁾	378.20±14.33	1,503.44±38.64	ND	20.15±4.42
RPV ³⁾	600.12±25.53	617.28±23.15	1,654.17±46.49	ND	18.08±1.10

¹⁾RG, 0.25% red ginseng extract.

²⁾PFV, 5% *Prunus mume* fruit vinegar.

³⁾RPV, beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar.

⁴⁾ND, not detected.

⁵⁾Data values are expressed as the means±SD (n=3).

것으로 사료된다.

3.3. 혈중 피로물질 변화에 미치는 영향

홍삼매실식초 혼합 음료에 대한 항피로 효과를 확인하기 위해 혈중 피로물질을 측정하였다(Fig. 3). EC군의 무기인

산, 암모니아농도는 SC군과 유의적인 차이가 없었으나, 젖산농도에서 유의적인 차이를 보였다. RPV군의 무기인산, 암모니아 및 젖산의 수치는 각각 0.67 mM, 24.28 mmol/L 및 1.75 mM로 확인되었으며, RG군 및 PFV군의 피로물질들과 비교했을 때, 무기인산 농도는 각각 44.24, 45.98%

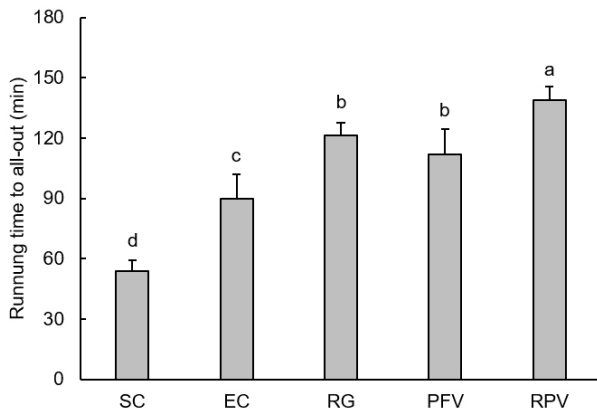


Fig. 2. Effects of a beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar (RPV) on running endurance time. Data values represent the mean \pm SD (n=6). Significant difference was determined using Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. SC, sedentary control; EC, exercised control; RG, 0.25% red ginseng extract; PFV, 5% *Prunus mume* fruit vinegar; RPV, beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar.

감소하였고, 암모니아 수치는 각각 32.63, 36.66% 더 낮게 나타났으며, 젖산 수치의 경우 25.13, 26.47% 더 감소한 값으로 모든 수치에서 유의적인 감소가 확인되었다(Fig. 3). Kim 등(2020)은 고강도 운동을 한 쥐 모델에서 유기산을 다량 함유한 매실식초의 섭취는 혈중 무기인산, 암모니아 및 젖산을 조절함으로써 효과적으로 항피로 효과를 나타냈다고 보고하였고, Yoon 등(2012)은 임상실험을 통해 홍삼 및 홍삼혼합물의 섭취는 유무산소성 운동수행능력 향상과 혈중 젖산 농도를 감소시켰으며, 특히 피로회복에 도움을 줄 수 있는 다양한 성분을 함유한 홍삼혼합물이 홍삼의 단일섭취보다 상대적으로 긍정적인 효과가 있다고 보고하였다. 또한, 점증적 운동부하법을 이용한 운동 쥐모델에서 혈청 내 젖산농도가 비운동군에 비해 운동군에서 감소하면서, 운동훈련을 통한 운동능력의 증가로 인한 젖산 농도의 감소가 확인되었다(Seok 등, 2010). 비록 본 연구에서 무기인산 및 암모니아 수치는 비운동군인 SC군과 운동군인 EC군에서 유의적인 차이는 보이지 않았지만, EC군의 젖산농도는 SC군보다 유의적으로 감소하였는데, 이는 운동훈련 프로그램으로 인한 운동능력의 증가로 판단되며, 앞선 지구력 향상과 연관이 있는 것으로 사료된다. 또한, 매실식초와 홍삼 농축액의 단일 섭취보다 홍삼매실식초 혼합 음료 섭취군에

서 혈청 내 무기인산, 암모니아 및 젖산 같은 피로지표물질의 유의적인 감소가 확인되었는데, 이는 혼합을 통해 제조된 홍삼매실식초 혼합 음료의 풍부한 유기산 및 생리활성 물질에 의한 것으로 판단된다.

3.4. 간 및 근육조직의 glycogen 함량에 미치는 영향

체내 에너지 생성에 필수적인 간 및 근육 내 글리코겐 함량 결과는 Fig. 4와 같다. EC군에서 간 및 근육 내 글리코겐 함량은 SC군보다 각각 32.46, 29.59% 더 증가한 것으로 나타나면서 유의적인 차이를 보였고, RPV군의 간 및 근육 내 글리코겐 함량은 각각 288.44, 22.84 $\mu\text{g/g}$ 으로 유의적으로 가장 높은 수치로 확인되었다. 간 내 글리코겐 함량의 경우 RPV군이 RG군 및 PFV군보다 각각 18.95 및 21.50% 높은 것으로 나타났으며, 유의적인 차이를 보였다(Fig. 4(A)). 또한, RPV군의 근육조직의 글리코겐 함량은 RG군 및 PFV군과 비교했을 때, 각각 16.57, 19.53%로 유의적으로 증가한 수치가 확인되었다(Fig. 4(B)). Hsiao 등(2018)은 우장지 버섯과 인삼 혼합물 섭취는 수영부하 피로 쥐 모델에서 근육 내 글리코겐 함량이 대조군보다 유의적으로 증가하였고, 이는 우장지 버섯의 triterpenoid와 인삼 내 polysaccharide 같은 생리활성 물질에 의한 피로회복 효과라고 보고하였다. 또한, Fushimi 등(2001)은 아세트산 공급은 흰 쥐의 간과 비장근 내 글리코겐 보충을 향상시킨다고 보고하였다. 또한, 트레드밀 운동 프로그램을 실시한 쥐에서 운동의 효과로 인해 간 및 근육 내 글리코겐 함량이 비운동군보다 운동군에서 유의적으로 증가하였다(Hwang 등, 2016). 본 실험 결과, 비운동군인 SC군보다 운동군인 EC군에서 간 및 근육 내 글리코겐 함량이 증가하였으며, 이는 고강도 운동 프로그램을 통한 운동의 효과로 판단된다. 또한, 매실식초 또는 홍삼농축액을 단독 섭취하였을 때보다 혼합 섭취 시 간 및 비장근 내 글리코겐 함량이 유의적으로 증가하였는데, 이는 매실식초에 포함되어 있는 아세트산과 홍삼 내 polysaccharide를 함유하고 있는 RPV에서의 항피로에 대한 상승 효과로 판단된다. 따라서, 아세트산 및 polysaccharide를 함유한 홍삼매실식초 혼합 음료의 시너지 효과와 간 및 근육 글리코겐의 보충을 통한 에너지 회복과 관련하여 항피로 효능이 증가된 것으로 사료된다.

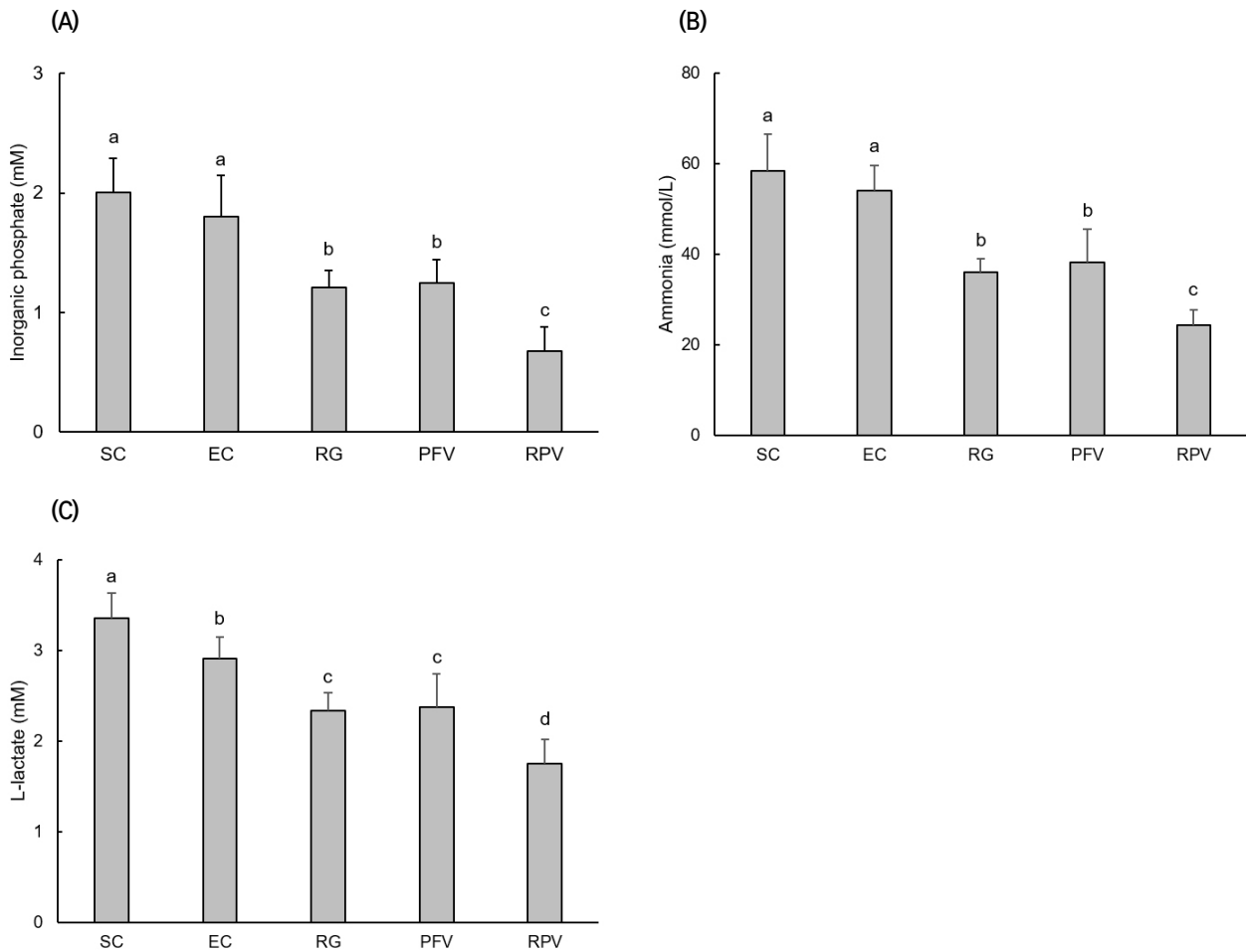


Fig. 3. Effects of a beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar (RPV) on serum (A) inorganic phosphate, (B) ammonia and (C) lactate in exhausted rats. Data values represent the mean±SD (n=6). Significant difference was determined using Duncan’s multiple range test at p<0.05. SC, sedentary control; EC, exercised control; RG, 0.25% red ginseng extract; PFV, 5% *Prunus mume* fruit vinegar; RPV, beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar.

3.5. 혈청 및 근육조직의 CK 및 LDH 활성에 미치는 영향

고강도 운동 쥐 모델에서 RPV 섭취에 따른 혈청 및 근육 조직 내 creatine kinase(CK)와 lactate dehydrogenase (LDH) 활성을 수행한 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 본 연구에서 RPV군의 혈청 및 근육 내 CK 수치는 각각 465.42 U/L와 33.05 U/L를 나타냈다(Fig. 5(A)-(B)). RPV군의 혈청 내 CK값은 RG군 및 PFV군과 비교하였을 때 각각 54.22, 54.62% 더 낮은 수치를 보였고, 근육 내 CK 수치는 RG군과 PFV군보다 각각 32.21 및 34.46% 더 낮은 값을 보이면서 혈청 및 근육 내 CK 활성은 RPV군에서 유의적으로 감소한 것을 관찰할 수 있었다. Lactate dehydrogenase (LDH) 활성 결과는 Fig. 5(C)에서 보이는 바와 같이 RPV군

이 140.13 U/L로 RG군 및 PFV군보다 각각 44.76, 18.67% 유의적으로 높게 나타났다. 유사한 연구로 Kim 등 (2020)은 매실식초의 투여가 고강도 운동을 한 쥐의 LDH 활성 증가와 CK 활성 감소를 통해 피로 회복을 개선시킨다고 보고하였고, Yang 등(2022)은 고려 홍삼 캡슐 섭취가 CK의 생성을 감소시켜 육체적 피로 회복에 도움을 준다고 보고하였다. 또한, LDH 효소는 고강도 운동 시 젖산의 대사를 활성화시켜 체내 에너지 생성을 촉진한다고 보고된 바 있다(Juel 등, 2004). 본 연구결과에서 RPV군의 혈청 및 근육 내 CK 수준을 유의적으로 감소시켜 근육 손상을 줄이고 LDH 활성을 증가시켰는데, 이는 PFV의 LDH 활성 증가 및 CK 활성 감소 효과와 RG의 CK 생성 억제 효능의 시너

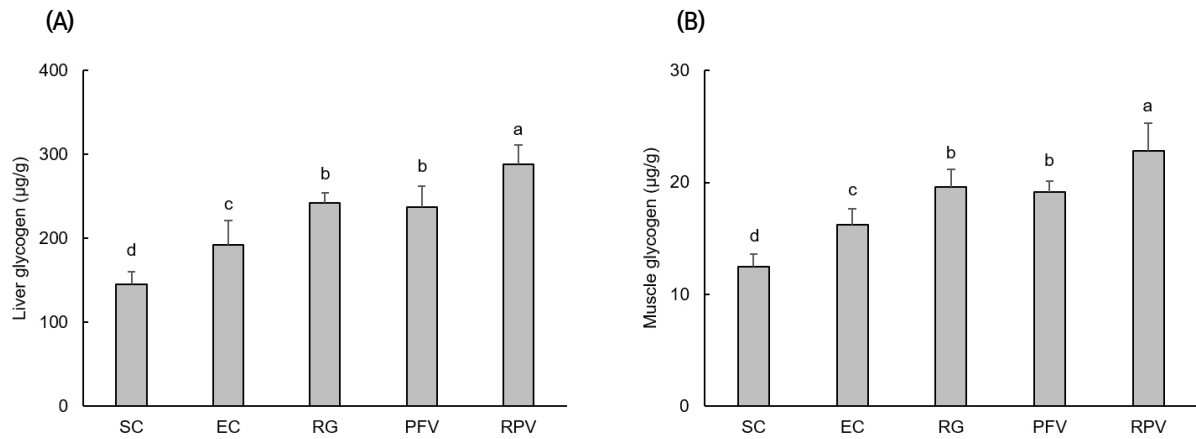


Fig. 4. Effects of a beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar (RPV) on glycogen of (A) liver and (B) muscle in exhausted rats. Data values represent the mean \pm SD (n=6). Significant difference was determined using Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. SC, sedentary control; EC, exercised control; RG, 0.25% red ginseng extract; PFV, 5% *Prunus mume* fruit vinegar; RPV, beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar.

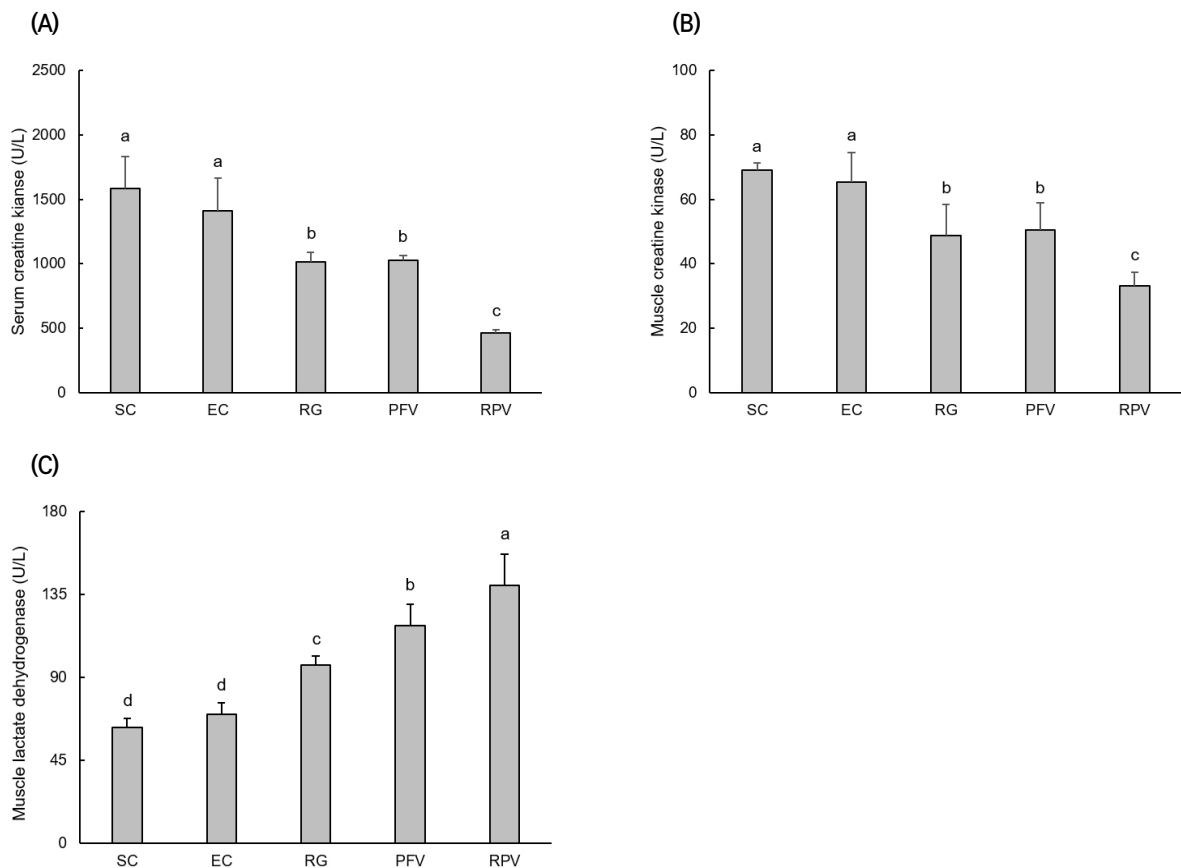


Fig. 5. Effects of a beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar (RPV) on serum (A) creatine kinase, muscle (B) creatine kinase and (C) lactate dehydrogenase activities in exhausted rats. Data values represent the mean \pm SD (n=6). Significant difference was determined using Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. SC, sedentary control; EC, exercised control; RG, 0.25% red ginseng extract; PFV, 5% *Prunus mume* fruit vinegar; RPV, beverage mixture of 0.25% red ginseng extract and 5% *Prunus mume* fruit vinegar.

지 효과를 통해 나타난 결과로 사료된다. 따라서 RPV의 섭취는 혈청 및 근육 내 CK 수준을 유의적으로 감소시켜 근육 손상을 줄이고, LDH 활성 증가를 통해 젖산의 대사를 촉진함으로써 증진된 항피로 효과가 있음을 시사한다.

4. 요약

본 연구는 매실식초 및 홍삼농축액 혼합 음료의 증진된 피로회복 효과를 확인하고자 유기산 함량과 고강도 운동 쥐 모델에서 항피로 관련 인자를 측정하였다. 홍삼농축액 및 매실식초 혼합 음료 내 유기산 함량은 acetic acid가 1,654.17 ppm으로 가장 높은 함량을 보였고, malic acid와 citric acid가 각각 617.28, 600.12 ppm으로 확인되었다. 항피로 관련 인자 중 지구력을 측정된 결과, 홍삼매실식초 혼합 음료(RPV)를 섭취한 군에서 138.83 min으로 가장 높은 지구력을 보였으며, 혈중 무기인산과 암모니아 및 젖산 함량은 0.67 mM, 24.28 mmol/L 및 1.75 mM으로 유의적으로 가장 낮은 수치를 보였다. 또한, 간 및 근육 내 글리코겐 함량에서 RPV는 각각 288.4, 22.84 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높은 함량을 나타냈다. RPV의 혈청 및 근육조직 내 creatine kinase 함량은 465.42와 33.05 U/L로 유의적으로 가장 낮은 값으로 확인되었으며, 근육 내 lactate dehydrogenase 함량은 RPV에서 가장 높은 값인 140.13 U/L로 나타났다. 본 연구결과를 통해 풍부한 유기산을 가진 매실식초 및 홍삼농축액 혼합 음료의 섭취는 매실식초 또는 홍삼농축액의 단일 섭취에 비해 증진된 항피로 효과를 나타낸다는 것을 확인하였으며, 이는 피로회복 기능성식품 소재로 이용할 수 있을 것으로 기대한다.

Acknowledgements

This work was supported by the grant from The Korean Society of Ginseng (2020).

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Seo KI. Methodology: Kim JH, Seo KI. Formal analysis: Park WL, Kim JH. Validation:

Park WL, Kim JH, Seo KI. Writing - original draft: Park WL. Writing - review & editing: Park WL, Seo KI.

Ethics approval

This research was approved by IACUC from the Dong-A University Institutional Animal Care and Use Committee (approval no. DIACUC-21-4).

ORCID

Wool-Lim Park (First author)

<https://orcid.org/0000-0003-3976-4852>

Jeong-Ho Kim

<https://orcid.org/0009-0003-4872-3291>

Kwon-Il Seo (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0002-2391-9146>

References

- Bae DK, Choi HJ, Son JH, Park MH, Bae JH, An BJ, Bae MJ, Choi C. The study of developing and stability of function beverage from Korean persimmon (*Diospyros kaki* L. *folium*) leaf. Korean J Food Sci Technol, 32, 860-866 (2000)
- Bal JS, Jawanoda JS, Singh SN. Development physiology of ber (*Zizyphus mauritina*) var. *urman*. IV. Change in amino acids and sugar at different stages of fruit ripening. India FD Pckr, 33, 3335-3337 (1979)
- Banfi G, Lombardi G, Colombini A, Melegati G. Whole-body cryotherapy in athletes. Sports Med, 40, 509-517 (2010)
- Cho HD, Kim JH, Lee JH, Hong SM, Yee ST, Seo KI. Anti-fatigue effect of a cucumber vinegar beverage on rats after high-intensity exercise. Korean J Food Sci Technol, 49, 209-214 (2017)
- Cho HD, Lee JH, Jeong JH, Kim JY, Yee ST, Park SK, Lee MK, Seo KI. Production of novel vinegar having antioxidant and anti-fatigue activities from *Salicornia herbacea* L. J Sci Food Agric, 96, 1085-1092 (2016)
- Chu GX, Chen X. Anti-lipid peroxidation and

- protection of ginsenosides against cerebral ischemia-reperfusion injuries in rats. *Acta Pharmacol Sin*, 11, 119-123 (1990)
- Furukawa S, Udea R. Studies on non-volatile organic acid in vinegar, contents of non-volatile organic acid in commercial vinegars. *J Fement Technol*, 41, 14-19 (1963)
- Fushimi T, Sato Y. Effect of acetic acid feeding on the circadian changes in glycogen and metabolites of glucose and lipid in liver and skeletal muscle of rats. *Br J Nutr*, 94, 714-719 (2005)
- Fushimi T, Suruga K, Oshima Y, Fukiharuru M, Tsukamoto Y, Goda T. Dietary acetic acid reduces serum cholesterol and triacylglycerols in rats fed a cholesterol-rich diet. *Br J Nut*, 95, 916-924 (2006)
- Fushimi T, Tayama K, Fukaya M, Kitakoshi K, Nakai N, Tsukamoto Y, Sato Y. Acetic acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats. *J Nutr*, 131, 1973-1977 (2001)
- Guan T, Li S, Guan Q, Shi JS, Lu ZM, Xu ZH, Geng Y. Spore powder of *Paecilomyces hepiali* shapes gut microbiota to relieve exercise-induced fatigue in mice. *Nutrients*, 14, 2973 (2022)
- Ha TY, Lee JH, Kim SH. Effect of *Panax ginseng* on the graft-versus-host reaction, production of leucocyte migration inhibitory factor and expulsion of adult *Trichinella spiralis* in mice. *J Korea Soc Microbiol*, 21, 133-144 (1986)
- Hsiao CY, Hsu YJ, Tung YT, Lee MC, Huang CC, Hsieh CC. Effects of *Antrodia camphorata* and *Panax ginseng* supplementation on anti-fatigue properties in mice. *J Vet Med Sci*, 80, 284-291 (2018)
- Hwang HJ, Kim JS, Jang JW, Lim KW, Joung SS, Choi SK. The effect of thiamine and endurance training of 4 weeks for PDH activity in skeletal muscle. *Korean J Phys Educ*, 55, 649-658 (2016)
- Jeong YJ, Lee MH, Seo KI, Kim JN, Lee YS. The quality comparison of grape vinegar by two stages fermentation with traditional grape vinegar. *J East Asian of Dietary Life*, 8, 462-468 (1998)
- Jeong YJ, Seo JH, Jung SH, Shin SR, Kim KS. The quality comparison of uncleaned rice vinegar by two stages fermentation with commercial uncleaned rice vinegar. *Korean J Postharvest Sci Technol*, 5, 374-379 (1998)
- Jeong YJ, Seo KI, Kim KS. Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J East Asian Soc Diet Life*, 6, 355-363 (1996)
- Jo GS, Chai HY, Ji HJ, Kang MH, Kang SJ, Ji JG, Kim DJ, Lee BJ. Enhancement of exercise capacity by black ginseng extract in rats. *Lab Anim Res*, 26, 279-286 (2010)
- Johnston CS, White AM, Kent SM. A preliminary evaluation of the safety and tolerance of medicinally ingested vinegar in individuals with type 2 diabetes. *J Med Food*, 11, 179-183 (2008)
- Juel C, Klarskov C, Nielsen JJ, Krstrup P, Mohr M, Bangsbo J. Effect of high-intensity intermittent training on lactate and H⁺ release from human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 286, 245-251 (2004)
- Kang MJ, Hwang CR, Lee SJ, Shin JH. Antifatigue effect of eel and plant mix extracts during aerobic running training in Sprague Dawley rats. *J Life Sci*, 24, 728-736 (2014)
- Kim CH, Kim MB, Lee SH, Kim YJ, Hwang JK. Ashitaba and red ginseng complex stimulates exercise capacity by increasing mitochondrial biogenesis. *Korean J Food Sci Technol*, 49, 685-692 (2017)
- Kim DH, Kim KT, Lee KK. The effect of drinking the plum extract on the college soccer player' cardiovascular system and blood lactated. *Korea J Sport Sci*, 24, 1381-1391 (2015)
- Kim JH, Cho HD, Won YS, Hong SM, Moon KD, Seo KI. Anti-fatigue effect of *Prunus mume* vinegar in high-intensity exercised rats. *Nutrients*, 12, 1205 (2020)
- Kim KJ, Bae YS, Lee SC, Lee WJ, Lee IK, Yoon YK, Yoo JS, Park HK, Ha WH. Influence of vinegar-drink with persimmon on oxygen transport function and recovery capacity in exercise.

- Korean J Phys Education, 36, 102-113 (1997)
- Kim MJ, Choi JH, Kwon SH, Kim HD, Bang MH, Yang SA. Characteristics of fermented dropwort extract and vinegar using fermented dropwort extract and its protective effects on oxidative damage in rat glioma C6 cells. Korean J Food Sci Technol, 45, 350-355 (2013)
- Kim SN, Ha YW, Shin H, Son SH, Wu SJ, Kim YS. Simultaneous quantification of 14 ginsenosides in *Panax ginseng* C.A. Meyer (Korean red ginseng) by HPLC-ELSD and its application to quality control. J Pharm Biomed Anal, 45, 164-170 (2007)
- Ko YJ, Jeong DY, Lee JO, Park MH, Kim EJ, Kim JW, Kim YS, Ryu CH. The establishment of optimum fermentation conditions for *Prunus mume* vinegar and its quality evaluation. J Korean Soc Food Sci Nutr, 36, 361-365 (2007)
- Kumar CT, Reddy VK, Thyagarajuk Prasady M, Reddanna PP. Dietary supplementation of vitamin E products heart tissue exercise induced oxidant stress. Mol CELL Biochem, 111, 109-115 (1992)
- Lee DS, Ryu IH, Lee KS, Shin YS, Chun SH. Optimization in the preparation of *Aloe* vinegar by *Acetobacter* sp. And inhibitory effect against lipase activity. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol, 42, 105-110 (1999)
- Lee JW, Ko HR, Shim KH. Structural characteristics of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red ginseng. Korean J Food Nutr, 11, 499-505 (1998)
- Lim EJ, Cha GH. Study on manufacturing of vinegar through literatures of the Joseon dynasty. Korean J Food Culture, 25, 680-707 (2010)
- Ortenblad N, Westerblad H, Nielsen J. Muscle glycogen stores and fatigue. J Physiol, 591, 4405-4413 (2013)
- Paik IY, Chang WR, Kwak YS, Cho SY, Jin HE. The effect of *Prunus mume* supplementation on energy substrate levels and fatigue induction factors. J Life Sci, 20, 49-54 (2010)
- Park SG. Effect of Maesil extracts on the blood components of women bad minton players. J Korean Sports Med, 8, 40-43 (1990)
- Park SK, Kyung KH. Stimulatory effect of oxygen on the browning of a soy sauce model system. Korean J Food Sci Technol, 23, 523-525 (1991)
- Park SY. The effect of sport drink on heart rate and lactate after exercise. Korean J Phys Educ, 34, 182-191 (1995)
- Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D. Biochemistry of exercised-induced metabolic acidosis. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 287, 502-516 (2004)
- Ryu S, Kwon TD. Effects of brown-rice vinegar ingestion on energy metabolism during moderate intensity exercise. Korean J Exer Nutr, 13, 217-224 (2009)
- Sheo HJ, Lee MY, Chung DL. Effect of *Prunus mume* extract on gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. J Korean Soc Food Sci Nutr, 19, 21-26 (1990)
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). J Korean Soc Food Sci Nutr, 37, 965-971 (2008)
- Sung NH, Jeong YJ. Consumer awareness survey on functional properties of vinegar beverage. Food Ind Nutr, 18, 37-42 (2013)
- Uemura T, Yamamoto A, Miura R, Yamano T. Microsomal methoxymelanin formation from 6-hydroxymelatonin. FEBS Lett, 122, 237-240 (1980)
- Xu C, Lv J, Lo YM, Cui SW, Hu X, Fan M. Effects of oat β -glucan on endurance exercise and its anti-fatigue properties in trained rats. Carbohydr Polym, 92, 1159-1165 (2013)
- Yang JO, Yoo CJ, Kim JO, Che ME. Utilization fermented tea-fungus beverage for the sports drink. Kor J Phys Edu, 38, 277-293 (1999)
- Yang Y, Wang H, Zhang M, Shi M, Yang C, Ni Q, Wang Q, Li J, Wang X, Zhang C, Li Z. Safety and antifatigue effect of Korean red ginseng capsule: A randomized, double-blind and placebo-controlled clinical trial. J Ginseng Res, 46,

543-549 (2022)

Yokozawa T, Suzuki N, Zheng PD, Oura H, Nishioka I. Effect of orally administered rhubarb extract in rats with chronic renal failure. *Chem Pharm Bull*, 32, 4506-4513 (1984)

Yoon SJ, Park HC, Lee JS, Choi YJ, Ahn SK, Kim NM, Choi YG. Effects of red ginseng and mixed red ginseng supplementation on aerobic · anaerobic

performance and fatigue recovery rate. *J Sport Leis Stud*, 47, 855-866 (2012)

Zheng Y, Zhang WC, Wu ZY, Fu CX, Hui AL, Gao H, Chen PP, Du B, Zhang HW. Two macamide extracts relieve physical fatigue by attenuating muscle damage in mice. *J Sci Food Agric*, 99, 1405-1412 (2018)