



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0102478
(43) 공개일자 2012년09월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12J 1/04 (2006.01) C12G 1/02 (2006.01)
A23L 2/84 (2006.01) C12R 1/865 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0041831
(22) 출원일자 2011년05월03일
심사청구일자 2011년05월03일
(30) 우선권주장
1020110017137 2011년02월25일 대한민국(KR)

(71) 출원인
이효형
경상남도 진주시 미천면 진산로 1826
류충호
경상남도 남해군 고현면 남해대로 3487-100
김익조
경남 진주시 평거동 728-39/3
(72) 발명자
이효형
경상남도 진주시 미천면 진산로 1826
류충호
경상남도 남해군 고현면 남해대로 3487-100
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김순용

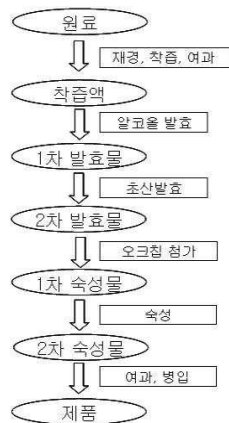
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **산머루 와인을 이용한 기능성 와인식초, 그 제조방법 및 산머루 와인식초를 함유하는 음료조성물**

(57) 요약

본 발명은 기능성 및 향미가 우수한 발사믹 타입의, 산머루를 이용한 와인식초, 그 제조방법 및 산머루 와인식초를 함유하는 음료조성물에 관한 것으로, 본 발명에 의한 기능성 산머루 와인식초는 천연 과실의 새로운 가공분야의 개척을 통한 수요 증대 및 과수 농가의 소득 증대에 이바지할 수 있고, 상품성이 떨어지는 다른 과일에의 적용 및 산머루 물질의 작용 기전 해석에 따른 의약보조제 및 건강보조식품 등으로 실용화 효과도 지니고 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자
김익조
경남 진주시 평거동 728-39/3

강상동
경상남도 진주시 가좌길 52-4 (가좌동)

특허청구의 범위

청구항 1

a) 산머루 착즙액을 설탕으로 보당하고, 효모를 접종하여 알코올 발효를 수행하는 단계; b) 상기 수득된 발효물을 열처리하여 알코올 발효를 중단시키는 단계, c) 상기 수득된 1차 발효물에 초산으로 산도를 6~7%로 조절하고 초산균을 접종하여 정치 초산발효를 수행하는 단계, d) 상기 수득된 초산 발효물에 오크칩 또는 그 대체물을 첨가하여 숙성시키는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 a) 단계 이전에, 원료인 산머루를 제경하고 세척, 압착하여 당도 10~30° Brix 의 착즙액으로 정제하는 단계;를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 a) 단계에서의 보당된 산머루 착즙액의 당도는 20~40° Brix 인 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 a) 단계에서 접종되는 효모는 사카로마이세스 세레비지에 인 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 a) 단계에서의 알코올 발효는 20~30℃의 온도에서, 10~20일간 수행되는 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 a) 단계에서 수득된 알코올 발효액 용액과 발효물을 가열하여 효모를 살균하는 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 살균처리는 알코올 농도 5~15% 범위의 알코올 발효액을 발효물과 50~100℃에서 5~40분간 가열하는 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 8

제 1항에 있어서, 상기 b) 단계는 상기 알코올 함량 3~10%에서 열처리하여 알코올 발효를 중단시키고, c) 단계는 수득된 1차 발효물에 3종의 혼합 초산균을 접종하여 20~35℃에서 배양시키는 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 9

제 1항에 있어서, 상기 c) 단계에서 접종되는 3종의 초산균은 Acetobacto aceti KCCM 12654, Acetobacto aceti KCCM 12655, Acetobacto aceti KCCM 32409의 혼합물인 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 10

제 1항에 있어서, 상기 d) 단계에서 첨가되는 오크칩은 0.1~2.0중량%의 양으로 첨가되고, 오크칩이 첨가된 초산 발효물은 2~25℃에서 1~3개월간 저온숙성되는 것을 특징으로 하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법.

청구항 11

산머루를 이용한 기능성 산머루 와인식초.

청구항 12

제 11항에 있어서, 상기 제1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 방법에 의하여 제조된 기능성 산머루 와인식초.

청구항 13

기능성 산머루 와인식초를 함유하는 음료조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 산머루를 이용한 기능성 와인식초, 그 제조방법 및 산머루 와인식초를 함유하는 음료 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 산머루는 포도과의 낙엽성 덩굴식물로 포도보다 10배 이상의 칼륨, 칼슘, 철분과 인 그리고 유기산과 비타민을 함유하고 있으며 괴혈병, 염증 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있어 오래 전부터 식용되어 오고 있다. 또한, 산머루는 오래전부터 섭취해 왔기 때문에 안전성이 확보되어 있고 병충해에 강하므로 수입산 포도에 대처하여 친환경 혹은 유기농법으로 재배가 가능하고 일손이나 경비가 적게 들어 경제적이고 수익성이 높은 경제과수로 정착하고 있으며 기호면에서도 좋은 반응을 보여 산머루시장이 점차 확산되어가고 있는 추세이다.

[0003] 그러나 이러한 산머루를 이용한 가공식품은 단순히 착즙한 주스나 와인에 그치고 있는 실정이며, 제조된 와인의 경우 신맛이 강해 대량소비가 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 따라서 이러한 문제점을 해결하는 한 방법으로써, 와인을 이용하여 고품질의 와인 식초를 제조한 후 오크통에서 장기숙성 함으로써 향미를 강화시켜 식초음료 및 드레싱 원료를 제조할 경우, 보다 더 큰 부가가치 상승을 유발할 수 있을 것이기에, 이에 대한 연구가 더욱 더 절실하다 할 것이다.

[0004] 한편, 국내 식초 시장은 2007년 기준으로 450억원의 규모를 나타내고 있으며 조미식초는 매년 약 30% 정도 증가하고 있는 반면, 음료용 식초의 경우 매년 60%이상으로 큰 성장세를 나타내고 있어 식초 시장은 앞으로도 증가세를 나타낼 것으로 보여지는 바, 향후 2011 ~ 2012년에는 약 1,000억 이상의 시장 규모를 보일 것으로 예상된다. 국내의 음료용 식초 시장에서 대표적으로 큰 인기를 나타낸 감식초의 경우 10억원 이상의 시장 규모까지 성장한 바 있어 과일 식초 시장은 큰 성장 가능성을 가진 것으로 보인다.

[0005] 그러나, 상기와 같은 향후의 긍정적 성장 가능성에도 불구하고, 현재 국내 발사믹 식초는 전량 수입에 의존하고 있으며 제품에 따라 가격의 편차가 매우 심하고, 이를 대체하기 위한 국산 발사믹 식초 제품은 기존 수입 발사믹 식초에 과즙을 첨가한 단순 혼합 제품으로 강한 단맛과 좋지 못한 향으로 소비자의 기호도를 만족시키지 못하고 있는 바, 이러한 상기와 국내의 식초시장에 있어서의 문제점 극복이 절실히 요구되는 실정이라 할 것이다.

[0006] 이에 본 발명자는, 상기와 같은 종래 국내시장에서의 식초음료가 지니는 한계를 극복하고, 시장성과 경제성을 함께 지닐 수 있는 기능성 식초음료를 제조하고자 예의 노력을 계속 하던 중, 고산도 식초 제조용으로 분리된 초산균 3종을 혼합하여 사용함으로써, 고산도 제품으로 발효 효율을 증대시키고 제품 품질의 안정성을 도모하고, 아울러, 이를 통해 향후 값비싼 수입 발사믹 식초의 대체재 효과와 세계 시장 진출을 통한 농가 소득 증대에 기여하며, 또한, 산머루의 약리학적 특성과 참나무 오크를 이용하여 장기 숙성시킴으로서 기능성 및 향미가 우수한 발사믹 타입을 지니는 기능성 산머루 와인식초를 제조하기에 이르렀다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 기능성 및 향미가 우수한 발사믹 타입의, 산머루를 이용한 기능성 와인식초, 그 제조방법 및 산머루 와인식초를 함유하는 음료조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 a) 산머루 착즙액을 설탕으로 보당하고 효모를 접종하여 알코올 발효를 수행하는 단계, b) 상기 수득된 발효물을 열처리하여 알코올 발효를 중단시키는 단계, c) 상기 수득된 1차 발효물에 초산으로 산도를 6~7%로 조절하고 초산균을 접종하여 정치 초산발효를 수행하는 단계, d) 상기 수득된 초산 발효물에 오크칩 또는 그 대체물을 첨가하여 숙성시키는 단계를 포함하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된, 산머루를 이용한 기능성 와인식초를 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 기능성 산머루 와인식초를 함유하는 음료조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 제조방법에 따라 제조된 산머루를 이용한 기능성 와인식초는, 향후 천연 과실의 새로운 가공분야의 개척을 통한 수요 증대 및 과수 농가의 소득 증대에 이바지할 수 있고, 식품 부재료로의 활용가능성을 제시함과 아울러, 산머루 가공품의 유통 및 저장성을 향상시켜 고가의 수입 제품 대체재로서 활용될 수 있으며, 국민보건 향상, 국내 식초 및 디저트, 음료 시장의 활성화 및 작용 기전 해석에 따른 의약보조제 및 건강보조식품 등의 실용화를 유발하는 효과도 지니고 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 본 발명에 따른, 산머루 와인식초의 제조과정을 나타내는 전체 공정도이다.

도 2는 본 발명에 따른, 초기 초산함량에 따른 초산발효의 특성을 나타내는 그래프이다.

도 3은 본 발명에 따른, 초기 당도에 따른 산머루 와인식초의 알코올 함량변화를 나타내는 그래프이다.

도 4는 본 발명에 따른, 초기 당도에 따른 산머루 와인식초의 당도 변화를 나타내는 그래프이다.

도 5는 본 발명에 따른, 산머루 와인식초의 초산발효 과정을 나타내는 사진이다.

도 6은 본 발명에 따른, 초기 초산함량에 따른 산머루 와인 식초의 초산함량 변화를 나타내는 그래프이다.

도 7은 본 발명에 따른, 산머루 와인식초의 연속배양 상태를 나타내는 그래프이다.

도 8은 본 발명에 따른, 오크통 및 오크칩 첨가 후 산머루 와인식초의 장기숙성의 상태를 나타내는 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 a) 산머루 착즙액을 설탕으로 보당하고 효모를 접종하여 알코올 발효를 수행하는 단계, b) 상기 수득된 발효물을 열처리하여 알코올 발효를 중단시키는 단계, c) 상기 수득된 1차 발효물에 초산으로 산도를 6~7%로 조절하고 초산균을 접종하여 정치 초산발효를 수행하는 단계, d) 상기 수득된 초산 발효물에 오크칩 또는 그 대체물을 첨가하여 숙성시키는 단계를 포함하는 기능성 산머루 와인식초의 제조방법을 제공한다.
- [0014] 본 발명에서 사용되는 용어 “효모(yeast)”는 진핵세포 구조를 가진 고등 미생물로 생활의 대부분을 구형, 난형 등의 단세포로 행하고 주로 출아에 의하여 증식하는 진균류의 총칭이다. 또한, 효모는 빵, 맥주, 포도주 등을 만드는 데 사용되는 미생물이고, 전형적인 효모는 출아에 의해 증식하는 크기 8 μm의 타원형?구형인 세포이다. 또한, 효모 자체는 값싼 지방, 단백질원으로 사료에 사용되며, 비타민 B군을 풍부하게 함유하고 또 비타민D를 함유하는 것도 있으며 의약품 공업에도 사용되고 있다. 효모의 대표속인 Saccharomyces는 알코올발효(청주, 맥주, 막걸리, 포도주), 식용효모, 빵효모로 그 활용이 넓다.
- [0015] 본 발명에서 사용되는 용어 “알코올 발효 (alcohol fermentation)”는 산소가 없는 상태에서 미생물에 의하여 당류가 알코올과 이산화탄소로 분해되어 알코올을 생성하는 발효로써, 주정발효라고도 한다. 종래 생물이 무산소 상태로 에너지(energy)를 획득하는 수단인 한 가지로 다음 식에 따라서 당류로부터 에탄올과 탄산가스를 생성하는 과정을 들 수 있는 바, Embden-Meyerhof-Parnas(EMP) 경로에 $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$ 의해서 포도당으로부터 피루브산(pyruvic acid)이 생기고 이어서 탄산가스를 방출하여 acetaldehyde로 변환되는 것이 그러하다. 또한, 효모에 의한 양조용 알코올의 제조는 예로부터 알려지고 있지만 실용적으로는 Saccharomyces속 효모가 주로 쓰이고 있는데, 특히, 양조용 효모는 내당성, 내알코올성을 가지므로 발효속도가 빠르고 높은 에탄올 수율 등의 특성을 갖는다. 한편, 연속발효는 효모를 살려둔 채로 고밀도로 고정화한 것을 발효조에 충전하고 원료인 당을 함유하는 액을 흘려보내면 효모의 작용으로 에탄올로 변환되어져 나온다. 종래의 생산법은 원료와 효모를 발효조에 함께 넣어 발효시키는 회분법인데, 연속법은 회분법에 비하여 체적당 효모수가 많기 때문에 필요한 시간을 대폭 줄일 수 있고 발효조의 크기를 적게 할 수 있다. 또한 원료가 효모의 증식에 따라 소비되어지는 비율이 고정화효모에서는 적기 때문에 원료의 에탄올 전환율이 커지고 같은 양의 에탄올을 만드는데 필요한 원료를 10% 정도 절약할 수 있는 이점이 있다. 효모에 의한 알코올발효의 한계 온도는 최고 37℃, 최저 0℃ 부근이지만 30℃ 부근이 최적온도이다. 최적 pH는 비교적 낮아 4.0 부근이다. 그러나 존재하는 산의 종류에 따라서 최적 pH는 달라진다. 당의 농도를 어느 정도까지 증가시키면 발효는 왕성하지만 8~12%까지는 심한 변화가 없고 그 이상 더 높아져서 20% 이상이 되면 삼투압 때문에 저해된다.
- [0016] 본 발명의 구체적 실시예에 따른 제조공정 흐름도를 참조하면, 본 발명인 산머루 기능성 와인식초는 상기 산머루 원료를 제경, 착즙, 여과한 후, 그 완성된 착즙액을 알코올 발효를 통하여 1차 발효하고, 다시 초산발효를 통하여 2차 발효물을 수득한 뒤, 오크칩 첨가하는 1차 숙성 및 다시 숙성하는 2차 숙성의 과정을 거치고 이후 최종적으로 여과, 병입과정을 통하여 완성된다 (도 1 참조).
- [0017] 본 발명은 상기 a) 단계 이전에, 원료인 산머루를 제경하고 세척, 압착하여 당도 10~30° Brix 의 착즙액으로 정제하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0018] 본 발명은 상기 a) 단계에서 보당된 산머루 착즙액의 당도가 20~40° Brix 인 것이 바람직하다.
- [0019] 또한, 상기 a) 단계에서 접종되는 효모는 사카로마이세스 세레비지에 인 것이 바람직하며, 알코올 발효는 20~30℃의 온도에서, 10~20일간 수행되는 것이 바람직하다.
- [0020] 본 발명에 접종되는 효모는 상기 a) 단계에서 수득된 알코올 발효액 용액과 발효물을 가열하여 살균하는 것이 바람직한데, 이러한 살균 처리는 알코올 농도 5~15% 범위의 알코올 발효액을 발효물과 50~100℃에서 5~40분간 가열하는 조건에서 수행될 수 있다.
- [0021] 또한, 상기 b) 단계에서는 수득된 알코올 함량 3~10%에서 열처리하여 알코올 발효를 중단시키고, c) 단계는 상기 1차 발효물에 초산으로 산도를 6~7%로 조절하고 3종의 초산균을 접종한 다음 20~35℃에서 배양시키는 것을

포함할 수 있다.

- [0022] 상기 c) 단계에서 접종되는 초산균은 *Acetobacto aceti* KCCM 12654, *Acetobacto aceti* KCCM 12655, *Acetobacto aceti* KCCM 32409의 3 종을 포함할 수 있는데 이들을 혼합하여 사용하는 것이 바람직하다.
- [0023] 본 발명에서 사용되는 용어 “초산균(아세트산균, acetic acid bacteria, acetobacter)”은 그람음성 호기성 세균의 한 속(屬)으로, 이러한 초산균은 알코올을 산화하여 초산을 만드는 균과 포도당을 산화하여 클루론산이나 케토산을 만드는 균으로 나누어진다. 전자를 *Acetobacter*, 후자를 *Gluconobacter*라고 부르며, 주로 초의 제조에 관여하는 *Acetobacter*는 *Pseudomonadaceae*에 속하는 호기성의 세균으로 타원 또는 단간상으로 세포는 단일 또는 짧은 연쇄상을 하고 있는 등 종류에 따라 다르다. 또한, 장기배양, 고온배양, 과일식염, 알코올 첨가배양 등에 따라 실모양, 그래프 모양, 약간 부푼 것 등 특이한 모양을 보이는 경우도 있다. *Acetobacter*속은 4종으로 분리되는데 *A. aceti*, *A. liquefaciens*, *A. pasteurianus* 및 *A. hansenii* 등이 그러하다.
- [0024] 또한, 상기 d) 단계에서 첨가되는 오크칩은 0.1~2.0중량%의 양으로 첨가되며, 오크칩이 첨가된 초산 발효물은 2~25℃에서 1~3개월간 저온숙성될 수 있다.
- [0025] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 산머루를 이용한 기능성 산머루 와인식초를 제공한다.
- [0026] 또한, 본 발명은, 상기 제조방법에 따라 제조된 기능성 산머루 와인식초를 제공한다.
- [0027] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 기능성 산머루 와인식초를 함유하는 음료조성물을 제공한다.
- [0028] 이하, 본 발명을 실시예를 통해 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0029] **실험예 개괄 : 산머루 와인 및 산머루 와인식초의 제조**

[0030] **실험예 1-1 : 산머루 와인 제조의 종균 및 최적 발효조건 확립**

- [0031] (1) 실험재료
- [0032] 본 발명에서는 산머루 즙은 경남 함양지역에서 생산된 산머루 제경을 제거하고 세척한 후 과피와 과육을 파쇄, 여과시켜 착즙한 액을 80℃에서 10분간 살균하여 사용하였다.
- [0033] (2) 와인 발효용 종균 배양
- [0034] 산머루 와인 제조를 위한 증효모의 선별 및 배양을 위해 와인 발효에 적합하다고 알려져 있는 효모 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM 12648을 YM(Yeast extract) 평판배지에 배양하여 이를 YM 액체 배지에 접종한 후 25℃에서 수 회 계대 배양하여 활성화시켰다. 또한, 이를 24° Brix로 보당한 산머루 착즙액의 1%를 접종하고 25℃에서 3일간 발효시켜 증효모를 배양하였다.
- [0035] (3) 혼합 초산균의 최적 발효조건 확립
- [0036] 3종의 혼합 초산균의 최적 발효조건을 확립하기 위해 혼합 배양된 종균을 4%의 에탄올이 함유된 GYP 액체배지에 1, 2, 3, 4%로 초산 함량을 달리하여 24℃에서 5일간 배양시키면서 1일 간격으로 초산 함량 변화를 측정하였다.
- [0037] (4) 국내 시판중인 발사믹 식초 특성 조사
- [0038] 국내 수입 발사믹 식초 제품에 대응하고 기호도가 우수한 와인식초를 제조하기 위하여 국내에 시판되고 있는 발사믹 식초 5종을 선별하여 산도, 당도, 숙성기간, 성분 및 시판되고 있는 가격 등 특성을 조사하였다.
- [0039] (5) 산머루 와인의 최적 발효조건 확립
- [0040] 산머루 와인식초의 원주를 제조하기 위한 산머루 와인의 최적 발효조건을 확립하기 위해 초기 당도를 18, 24 및 30° Brix로 각각 조절하여 24℃에서 15일간 발효시키면서 3일 간격으로 생성되는 알코올 함량과 당도 변화를 조사하였다.
- [0041] (6) 산머루 와인의 제조 및 숙성
- [0042] 확립된 산머루 와인의 최적 발효조건에 따라 설탕으로 최종 당도를 30° Brix로 보당 하였으며 1%의 주모를 첨가

하여 14℃에서 알코올 함량이 9% 내외로 도달했을 때 60℃에서 30분간 효모를 살균하여 발효를 중단시켰다. 발효가 중단된 산머루 와인을 압착 여과하여 잔존하는 효모 및 이물질을 제거하였으며 이후 5℃ 저온실에서 15일간 숙성시켜 와인 식초 제조의 원주로 사용하였다.

[0043] **실험예 1-2 : 산머루 와인식초 제조의 종균 및 제조방법 확립**

[0044] (1) 와인식초 발효용 종균 배양

[0045] 다른 지역의 발효 중인 감식초 탱크에서 순수 분리한 초산균의 초산 생성능을 확인하기 위해 250 mL 3중 방해판 삼각 플라스크에서 GYP 기본액체배지에 초산균을 접종하여 항온 진탕기에서 30℃, 200 rpm으로 교반하면서 2~3일간 단일 및 혼합 배양한 초산균의 초산 함량을 조사하였다. 그 결과를 바탕으로 초산균 3종(Acetobacto aceti KCCM 12654, Acetobacto aceti KCCM 12655, Acetobacto aceti KCCM 32409) 을 혼합하여 GYP 액체배지 50 mL에 혼합 배양액 2.5 mL를 접종하여 7일간 정치배양한 후 산머루 와인식초 제조용 종균으로 사용하였다.

[0046] (2) 산머루 와인식초의 최적 발효조건 확립

[0047] 가. 초기 초산 농도에 따른 초산 생성능 변화

[0048] 초기 초산 농도가 초산균의 초산 생성능에 미치는 영향을 알아보기 위해 9% 알코올 함량으로 조절된 산머루 와인에 초산 농도를 3, 3.5 및 4%로 조절하여 24℃에서 10일간 정치 발효시키면서 초산함량의 변화를 측정하였다.

[0049] 나. 산머루 와인식초의 제조방법 확립

[0050] 초기 초산 함량을 3.5%로 조절된 산머루 와인을 24℃에서 10일간 배양시킨 후 이를 종초로 사용하였다. 종초에 보관중인 산머루 와인식초를 첨가하여 초기 초산함량이 3.5%가 되도록 조절한 후 24℃에서 10일간 2차 발효 하였다. 발효가 완료된 산머루 와인식초의 1/2은 오크통 및 오크칩 숙성시켜 제품화에 사용되었으며 나머지는 다시 산머루 와인을 증량하여 초산 함량을 3.5%로 조절시킨 후 3차 발효를 실시하는 방법으로 유가배양법을 통한 연속적으로 제조하였다.

[0051] 다. 산머루 와인식초의 숙성조건 확립

[0052] 산머루 와인식초의 향미를 강화시키기 위한 오크통 및 오크칩 숙성 방법을 확립하기 위해 오크통과 1%의 오크칩을 첨가시켜 2개월간 숙성시킨 후 색도변화를 확인하였으며 오크칩의 최적 첨가농도를 확립하기 위해 오크통 및 0.5, 1.0, 1.5%로 오크칩 함량을 달리하여 첨가시킨 산머루 와인식초를 2개월간 숙성시켜 관능평가를 실시하였다.

[0053] **실험예 1-3 : 산머루 와인식초 및 시판 발사믹 식초의 품질특성 조사**

[0054] (1) 알코올 함량 측정

[0055] 산머루 와인의 알코올 함량은 AOAC법에 따라 시료 100 mL를 증류한 후, 15℃에서 주정계를 이용하여 측정하였다.

[0056] (2) 당도 측정

[0057] 산머루 즙의 당도는 굴절당도계(A. KRUSS. OPTRONIC)를 사용하여 측정하였다.

[0058] (3) 산도 측정

[0059] 산머루 와인 식초의 산도는 시료 1mL을 취하여 1% phenolphthalein용액 2~3방울을 첨가하고 0.1N NaOH를 표준용액으로 중화 적정한 후 초산으로 환산하여 %로 나타내었다.

[0060] (4) pH 측정

[0061] 산머루 와인식초의 pH는 pH meter(420 A, Orion)를 사용하여 측정하였다.

[0062] (5) 관능검사

[0063] 산머루 와인 및 와인식초의 관능검사는 23~30세의 남, 여 10명을 대상으로 와인의 색, 향기, 맛, 기호도를 평가하였다. 평가의 정도는 각 항목별로 매우 좋다 - 5, 좋다 - 4, 보통이다 - 3, 나쁘다 - 2, 매우 나쁘다 - 1점으로

로 평가하였다.

- [0064] (6) 색도
- [0065] 산머루 와인식초의 색도측정은 Chroma meter(Minolta CT-310, Japan)를 이용하여 측정하였으며 그 값을 L(명도), a(적색도) 및 b(황색도)로 표시하였다.
- [0066] (7) 유기산 함량 측정
- [0067] 산머루 와인식초의 유기산 함량은 와인식초를 원심분리(8,000×g, 10 min)하여 균체를 제거한 후 60% perchloric acid 50 μ l를 첨가하여 단백질을 침전시킨 다음 0.22 μ m membrane filter(Millipore)로 여과하였다. Sep-pak C₁₈(Waters Co.)로 여액에서의 색소 및 단백질 성분을 제거한 후 HPLC로 분석하였다. 유기산의 분석조건은 detector: Water 301, UV/visible(214nm), column: LUNA 5 μ m C₁₈(100×4.6 mm), flow rate: 1 mL/min, mobile phase: 0.02 M KH₂PO₄, injection vol.: 20 μ l를 사용하였다.
- [0068] (8) Resveratrol 함량 측정
- [0069] 산머루 와인식초의 resveratrol 함량은 HPLC로 분석하였다. 와인식초를 원심분리(8,000×g, 10 min)하여 균체를 제거한 후 60% perchloric acid 50 μ l를 첨가하여 단백질을 침전시킨 다음 0.22 μ m membrane filter(Millipore)로 여과하였다. Sep-pak C₁₈(Waters Co.)로 여액에서의 색소 및 단백질 성분을 제거한 후 HPLC로 분석하였다. Acetonitrile/water를 용매로 하여 gradient 조건 하에서 0.6 mL/min의 유동속도로 50분간 작동시켰다. 시료 주입량은 20 μ l이고, 용매의 gradient 조건은 8분까지 4:6 acetonitrile/water, 35분까지 1:9, 그리고 50분까지 다시 4:6으로 조정하였으며, resveratrol 함량은 308 nm에서 측정하였다. Sigma 사의 resveratrol을 표준물질로 사용하였다.

[0070] **실시예1 : 혼합 초산균의 최적 발효조건 확립**

- [0071] 3종의 혼합 초산균의 최적 발효조건을 확립하기 위해 혼합 배양된 종균을 초산 농도를 달리한 GYP 배지에 접종하여 5일간 발효시키면서 초기 초산함량에 따른 초산함량 변화를 확인하였다 (도 2 참조).
- [0072] 그 결과 발효기간이 경과함에 따라 모든 구에서 초산 함량이 증가하였으며 초기 초산 함량이 높을수록 최종 초산함량이 높게 나타났다. 또한 초기 초산 함량이 3%로 조절된 구의 초산 생성능이 가장 빠르게 나타났으며 초기 초산함량 대비 최종 초산함량의 효율이 가장 우수하게 나타났다.
- [0073] 따라서 초산균 3종을 혼합한 종균의 사입물은 초기 초산 함량과 알코올함량을 3:4로 조절하는 것이 가장 적합할 것이다.

[0074] **실시예2 : 국내 시판중인 발사믹 식초의 품질특성 조사**

- [0075] 기호도가 우수한 발사믹 타입의 와인식초를 제조하기 위해 국내에 시판되고 있는 발사믹 식초 5종을 선별하여 품질특성을 조사하였다.
- [0076] 하기 표 1은 국내에 시판되고 있는 국내의 발사믹 식초의 초산 및 당 함량을 나타낸 것이다. 국내 1종을 제외한 대부분의 제품이 외국 이태리에서 제조되었으며 숙성기간이 높을수록 시판가격이 증가하는 것으로 나타났다. 또한 대부분 발사믹 식초의 초산 함량은 5.8 ~ 6.1%로 나타났으며 당도는 국내 제품을 제외한 수입 제품은 21° Brix 내외로 나타났다. 반면 국내 제품의 당도는 38° Brix로 수입 제품에 비해 다소 높은 것으로 조사되었다.
- [0077] 따라서 본 발사믹 타입의 산머루 와인식초는 시판 발사믹 제품과 대응하기 위해 최종 초산의 함량을 6 ~ 7%로 조절하는 것이 가장 적합할 것이고, 또한 본 기술개발을 위한 식초는 유가배양법을 이용한 제조방법으로 최적 초산 발효조건에 의해 초기 초산함량을 3 ~ 4%, 초기 알코올 함량을 9 ~ 10% 조절하여 산머루 와인식초를 제조하는 것이 가장 적합할 것이다.

표 1

[0078]

국내 시판되고 있는 발사믹 식초의 특성

	외국 L사	외국 M사	외국 A사	외국 C사	국내 D사
산도 (%)	5.9	6.1	6.0	6.1	5.8
당도 (° Brix)	19.0	21.0	18.5	23.0	38.0
숙성기간(년)	12	8	4	-	-
성분	포도농축액 35%, 와인식초 65%	포도농축액 40%, 와인식초 60%	백포도주식초 65%, 농축포도과즙 33%	와인식초65%, 포도시럽 30%	발사믹식초 35%, 포도농축액27%, 적포도농축액 23%
시판 가격 (원/mL)	344.0	71.2	22.8	14.6	19.4

[0079]

실시예3 : 산머루 와인의 최적 발효조건 확립

[0080]

산머루 와인식초의 원주를 제조하기 위한 산머루 와인의 최적 발효조건을 확립하기 위해 초기 당도를 각각 달리 하여 종효모를 접종시킨 후 24℃에서 15일간 발효시키면서 3일 간격으로 조사하였다.

[0081]

상기 실험을 바탕으로 산머루 와인의 초기 당도를 달리하여 발효기간에 따른 알코올 함량 변화를 확인해 보면, 발효초기 모든 구에서 급격하게 알코올 함량이 증가하였으며 초기 당도가 높을수록 최종 알코올 함량이 높게 나타났다.

[0082]

또한 30° Brix로 조절된 구의 최종 알코올 함량은 발효 15일 후에도 계속 증가하는 경향을 보였다 (도 3 참조).

[0083]

또한, 상기 본 발명에 의한, 발효기간에 따른 당도변화를 살펴보면, 알코올 함량 결과와 대조적으로 발효 초기가 급격하게 감소하였으며 발효 종료시 대부분 5° Brix 내외에서 정지하는 것으로 나타났다 (도 4 참조). 이는 대부분의 당이 효모에 의해 알코올로 전환되거나 효모의 에너지원으로 사용되었기 때문이다.

[0084]

이상의 결과를 바탕으로 산머루 와인식초의 원주를 위한 9% 내외의 알코올 함량을 가지며 산머루 와인식초의 최종 제품 보당으로 인한 품질 불균일화를 막기 위해 초기 당도를 30° Brix로 조절하여 잔당이 20° Brix 내외로 유지될 수 있도록 하는 것이 가장 적합할 것이다. 따라서 30° Brix 로 보당한 산머루 착즙액을 발효시켜 9% 내외의 알코올 함량에 도달하게 되면 60℃에서 30분간 살균하여 알코올 발효를 중단시키고 여과하여 5℃에서 30일간 숙성, 보관하면서 와인식초 제조를 위한 원주로 사용하였다.

[0085]

실시예4 : 산머루 와인식초의 최적 발효조건 확립

[0086]

초기 초산함량에 따른 산머루 와인식초의 발효에 미치는 영향을 알아보기 위해 산머루 와인의 알코올 함량을 4.5%로 조절한 후 초기 초산 함량을 3.0, 3.5, 4.0%로 달리하여 10일간 발효시켰다 (도 5 참조).

[0087]

그 결과 발효기간이 증가함에 따라 모든 실험구의 초산 함량이 증가하였으며 초기 초산 함량이 높을수록 발효가 서서히 일어나는 것으로 나타났다. 또한 3.5%의 초기 초산함량을 가지는 실험구의 초산 생성률이 가장 높게 나타났다으며 발효 10일 이후에는 초산 함량이 증가하지 않았던 바, 발효가 거의 완료되었음을 알 수 있었다 (도 6 참조).

[0088]

따라서 산머루 와인식초의 제조를 위한 초기 초산 함량은 3.5% 초산 함량으로 조절하여 10일간 발효시키고 다시 산머루 와인을 원주로 첨가하여 초산 함량을 3.5%로 조절시킨 후 2차 발효로 이어지는 유가배양법이 가장 적합할 것이다.

[0089]

실시예5 : 산머루 와인식초의 유가배양법에 따른 연속제조법 확립

[0090]

산머루 와인식초의 최적 발효조건에 따른 결과를 바탕으로 초기 초산 함량을 3.5%로 조절한 산머루 와인을 24℃에서 10일간 배양시켜 7% 내외의 초산을 얻었으며 이를 종초로 사용하였다. 종초에 보관중인 산머루 와인을 첨가하여 초기 초산함량이 3.5%가 되도록 조절한 후 24℃에서 10일간 2차 발효하였다.

[0091]

또한, 발효가 완료된 산머루 와인식초의 1/2은 오크통 및 오크칩 숙성시켜 제품화에 사용되었으며 나머지는 다시 산머루 와인을 증량하여 초산 함량을 3.5%로 조절시킨 후 3차 발효를 실시하는 방법으로 유가배양 하였다 (도 7 참조).

[0092] **실시예6 : 산머루 와인식초의 숙성조건 확립**

[0093] 최적 발효조건으로 제조된 산머루 와인식초의 향미를 강화시키기 위해 오크통과 1%의 오크칩을 첨가하여 5℃에서 2개월간 숙성시킨 후 색도변화 결과와 오크통 및 오크칩의 첨가 함량을 달리하여 숙성시킨 후 관능평가를 실시한 결과를 하기 표 2와 표 3에 각각 나타내었다.

표 2

산머루 와인식초의 숙성 중 색도 변화

	오크통 숙성		오크칩 첨가 숙성	
	전	후	전	후
L값	31.49	32.39	32.01	31.98
a값	4.51	4.12	4.05	4.12
b값	11.3	10.25	10.91	10.23

표 3

산머루 와인식초의 숙성 조건에 따른 관능평가

	단맛	신맛	쓴맛	향	전체적 기호도
오크통 숙성	3.8	4.1	4.3	3.6	3.7
0.5% 오크칩	4.1	3.8	4.3	3.7	3.8
1.0% 오크칩	4.0	3.9	4.0	4.0	4.3
1.5% 오크칩	3.1	3.7	3.2	4.2	3.1

[0096] 산머루 와인식초의 L값은 31.49 ~ 32.01로 나타났으며 a값과 b값은 각각 4.51, 11.3 내외로 오크통 및 오크칩 첨가에 따른 영향을 크게 받지 않는 것으로 나타났다. 또한 2개월간 숙성시킨 산머루 와인식초의 색도는 숙성전의 값과 유사하게 나타나 오크통 및 오크칩 숙성에 따른 색 변화는 미약한 것으로 나타났다.

[0097] 오크통과 오크칩의 함량을 달리하여 첨가시킨 산머루 와인식초의 숙성 후 관능평가를 실시한 결과 오크통 숙성과 0.5%의 오크칩을 첨가했을 때 유사한 값을 나타내었으며 1%의 오크칩을 첨가한 실험구의 전체적인 기호도가 가장 높게 나타났다. 또한 모든 실험구에서 오크칩의 첨가량이 증가함에 따라 향 기호도는 증가하였으나 쓴맛 기호도는 감소하는 것으로 나타났다. 이는 산머루의 천연향과 오크칩 특유의 향이 잘 어울려 수입 발사믹 식초에 대응할 수 있는 향미를 가지게 되었으나 오크칩의 함량이 증가함에 따라 용출되어 나오는 탄닌의 함량이 증가하여 쓴맛이 상승했기 때문이다.

[0098] 따라서 상기 결과들을 바탕으로 산머루 와인식초에 1%의 오크칩을 첨가하여 5℃에서 2개월간 숙성시키는 것이 제품의 색을 변화시키지 않고 향미를 강화시키는데 가장 적합할 것이다 (도 8 참조).

[0099] **실시예7 : 산머루 와인식초의 품질특성 조사**

[0100] 최적 발효법으로 제조된 산머루 와인식초의 품질특성을 조사하기 위해 시판중인 C사의 양조식초와 비교하여 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

시판 양조식초 및 산머루 와인 식초의 유기산 함량 (mg%)

	시판 C사 양조식초	산머루 와인식초
Malic acid	16.7	280.1

[0101]

Lactic acid	21.1	20.1
Acetic acid	6722.9	5300.2
Citric acid	-	42.4
Succinic acid	-	37.2
Tartaric acid	-	160.2

[0102] 상기 제조된 산머루 식초의 주요 유기산으로는 malic acid, acetic acid, tartaric acid였고 그 함량은 각각 280.06, 5300.21 및 160.22 mg%로 나타났다. 산미에 영향을 주는 acetic acid와 citric acid 함량은 시판되고 있는 양조식초에 비해 비교적 높게 나타났다.

[0103] 따라서, 본 실험의 결과를 통해, 상기 제조된 산머루 와인식초의 malic acid와 citric acid의 함량이 시판 양조식초에 비해 높은 것은 산머루의 과실에 의한 것이며, 식품에 활용되었을 때 다양한 유기산으로 체내 생리활성을 향상시키는데 좋은 효과를 나타낼 수 있을 것이다.

[0104] 또한, 현재 시판중인 발사믹 식초 3종과 산머루 와인식초의 특성 및 관능평가 결과를 각각 하기 표 5, 6에 나타내었다.

표 5

시판 발사믹 식초 및 산머루 와인 식초의 특성 비교

	외국 A사	외국 C사	국내 D사	산머루 와인식초
산도 (%)	6.0	6.1	5.8	6.2
당도 (° Brix)	18.5	23.0	38.0	19.0
Total polyphenol (mg%)	312.2	215.5	432.1	612.3
Resveratrol (mg%)	0.25	0.12	0.31	8.12
시판 가격 (₩/mL)	22.8	14.6	19.4	가격미정

표 6

시판 발사믹 식초 및 산머루 와인 식초의 관능평가 비교

	향	단맛	신맛	색깔	전체적 기호도
외국 L사	3.7	4.1	4.4	2.5	4.1
외국 M사	3.2	3.8	3.9	2.8	3.9
외국 A사	3.4	3.2	4.4	2.3	3.5
외국 C사	3.2	3.2	3.2	2.5	2.1
국내 D사	4.1	1.5	2.2	4.8	1.5
산머루 와인식초	4.3	4.1	3.9	4.4	4.4

[0107] 상기와 같이, 시판 및 산머루 와인식초의 산도는 5.8 ~ 6.2로 유사하게 나타났으나 당도는 국내 D사의 제품이 38° Brix로 가장 높게 나타났으며 외국 A사의 제품이 18.5° Brix로 제품간에 차이가 크게 나타났다.

[0108] Total polyphenol 함량은 산머루 와인식초가 612.3 mg%로 가장 높게 나타났으며 국내 D사 제품이 432.1 mg%로 다소 높게 나타났다. 이는 첨가되는 산머루 및 포도 과즙의 함량이 다른 실험구에 비해 다소 높았기 때문이다.

[0109] 또한 resveratrol의 함량은 산머루 와인식초에서 다른 제품에 비해 8.12 mg%로 매우 높게 나타났다. 이는 포도에 비해 산머루는 항암 및 항산화 효과에 우수한 resveratrol을 다량 함유하고 있는 바, 원료로부터 기인된 것으로 볼 수 있다.

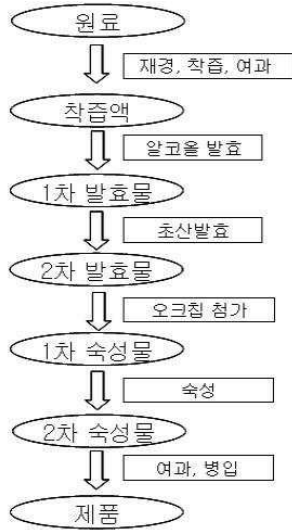
[0110] 따라서, 시판 발사믹 식초와 산머루 와인식초의 관능평가를 실시한 결과 산머루 와인식초의 전체적 기호도가 가장 우수하게 나타났다. 반면 당도가 높은 국내 D사 제품의 관능평가 결과가 가장 낮게 나타났으며, 외국 L사의 제품이 다른 시판 제품들에 비해 다소 높게 나타났는데, 이는 6% 내외의 산도를 가지는 발사믹 식초에서는 20° Brix 이하의 낮은 당 함량과 장기간 숙성에 의한 향미를 강화시킨 것이 소비자로부터 좋은 평가를 받았기 때문이다.

[0111]

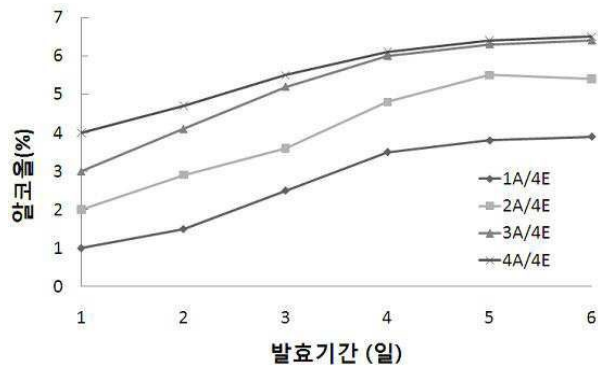
또한 외국 발사믹 식초 제품은 장기간 오크통 숙성으로 적갈색을 나타내어 오크칩을 이용하여 2개월간 숙성시킨 산머루 와인식초의 붉은색에 비해 색 기호도가 낮게 나타났다.

도면

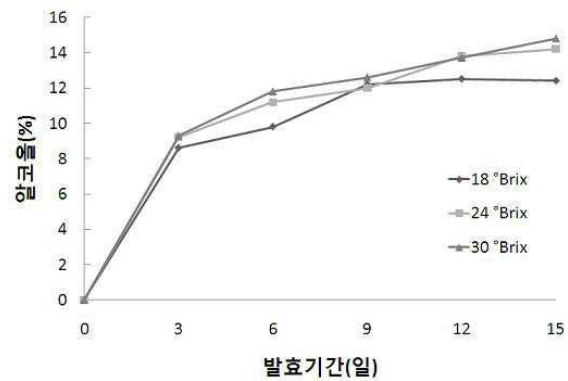
도면1



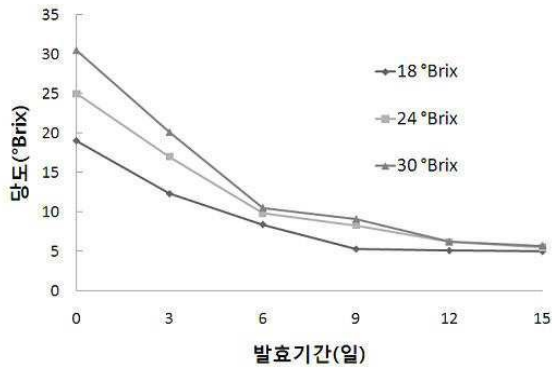
도면2



도면3



도면4



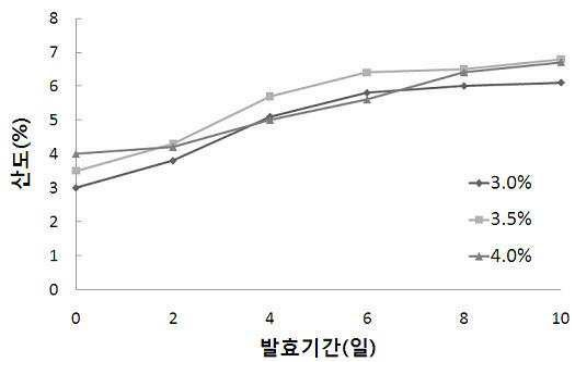
도면5



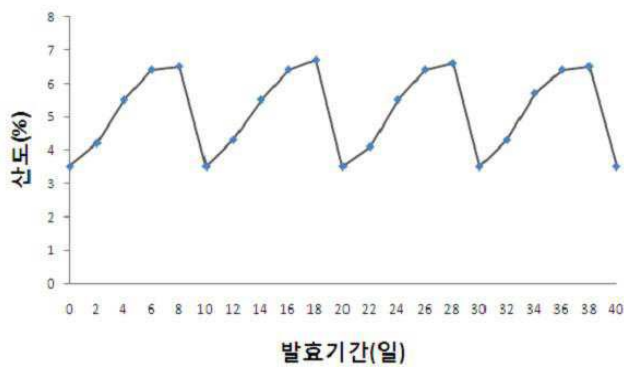
발효 3일째

발효 10일째

도면6



도면7



도면8



오크통



0.5% 오크칩



1.0% 오크칩



1.5% 오크칩