

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2012년 2월 2일 (02.02.2012)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2012/015235 A2

- (51) 국제특허분류:
C12G 3/02 (2006.01) C12G 3/04 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/005521
- (22) 국제출원일: 2011년 7월 27일 (27.07.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0072182 2010년 7월 27일 (27.07.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **경상대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC CO-OPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY) [KR/KR]**; 경상남도 진주시 가좌동 900, 660-701 Gyeongsangnam-do (KR).
- (72) 발명자: **김**
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): **심기환 (SHIM, Ki Hwan) [KR/KR]**; 경남 진주시 가좌동 900 경상대학교 농업생명과학대학 식품공학과, 660-701 Gyeongsangnam-do (KR). **정창호 (JEONG, Chang Ho) [KR/KR]**; 경남 진주시 가좌동 900 경상대학교 농업생명과학대학 식품공학과, 660-701 Gyeongsangnam-do (KR).
- (74) 대리인: **김순웅 (KIM, Soon Woong)**; 서울시 구로구 구로동 197-22 번지 에이스테크노타워 5 차 601 호, 152-766 Seoul (KR).

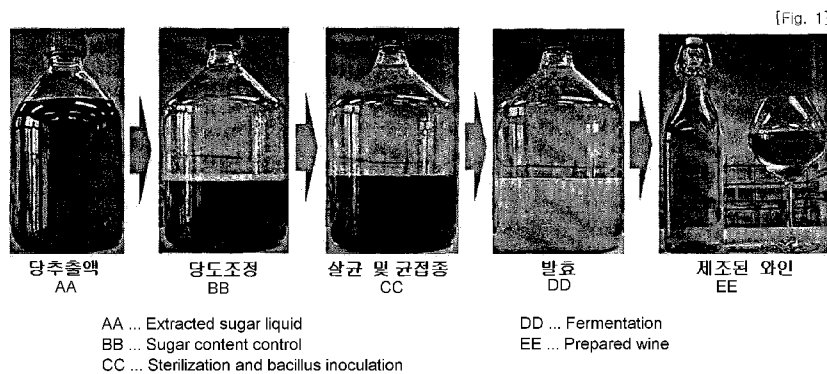
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

(54) Title: WINE PREPARED FROM PINKPOP LINDEN FRUIT, AND METHOD FOR PREPARING SAME

(54) 발명의 명칭 : 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법



(57) Abstract: The present invention relates to wine prepared from Pinkpop linden fruit, and to a method for preparing same. More particularly, the present invention relates to wine prepared from Pinkpop linden fruit, the taste and functionality of which are well-harmonized, and to a method for preparing the wine. According to the present invention, standardized method for preparing wine from Pinkpop linden fruit, and environmental conditions such as yeast inoculation volume, sugar content, other quantities of nutrient additives, fermentation temperature, and a sterilization method for the prepared wine are provided. The above-described standardized method and the environmental conditions may be utilized in establishing a basic material and application policy for processing other fruits. In addition, the standardized method and the environmental conditions may contribute to a promotion of the consumption of Pinkpop linden fruit and to an increase of income for rural households that subsist on cultivating Pinkpop linden trees.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



본 발명은 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로 맛과 기능성이 잘 조화된 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명에 의할 경우 핑크팝 보리수를 이용한 와인 제조방법의 표준화와 아울러 효모 접종량, 당 함량, 기타 영양원 첨가량, 발효온도 및 제조된 와인의 살균방법과 같은 환경적인 조건을 제공하며, 이를 기초로 타 과실의 가공을 위한 기초자료와 응용 방향의 확립에도 활용이 될 것이다. 또한, 잉여의 핑크팝 보리수 열매의 소비 촉진과 이를 재배하는 농가의 소득증대에 기여할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법 기술분야

- [1] 본 발명은 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로 맛과 기능성이 잘 조화된 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 보리수는 쌍떡잎식물 도금양목 보리수 나무과에 속하는 식물로서 주로 관상용 또는 과수로 재배되고 있다. 핑크팝 보리수의 열매는 구형이며, 길이가 1 cm이고 다소 짧은맛과 단맛을 가지고 있으며, 10월이 되면 포도송이처럼 열려 붉은 색으로 익는다. 잎은 어긋나고 타원형 또는 긴 타원형으로 윗부분은 짙은 녹색을 띄며, 뒤쪽은 갈색의 비늘털을 가진 은색이다. 보리수는 주로 열매를 이용하며, 한방에서는 이 열매를 목반하(木半夏)라고 한다. 보리수 열매의 효능으로는 오장을 보호하고, 번열(煩熱)과 소갈(消渴)을 없앨 뿐만 아니라 설사와 출혈을 멎게 하고, 소화불량, 골수염, 부종, 생리불순 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 오래전부터 우리나라와 중국의 민간에서는 열매뿐만 아니라 잎과 뿌리를 기침, 가래, 천식, 설사 및 가려움증 치료에 사용되어 왔다. 또한 잎과 줄기에는 당류, 지방산 및 피토스테롤(phytosterol)의 함량이 높다고 보고되고 있다.
- [3] 지금까지 보리수에 대한 연구는 영양학적 및 식품학적 성분 연구와 아울러 딸보리수 열매의 용매 분획별 항산화 및 암세포 증식 억제 효과, 딸보리수 잎의 유용성분, 딸보리수 추출물의 미백효과 및 항 혈소판 응집반응과 항염증 등 일부 연구에만 국한되어 있고 핑크팝 보리수 열매를 이용한 가공품 개발에 관한 연구는 미흡한 실정이다.
- [4] 종래의 와인 제조방법은 주로 일반적인 포도 와인 제조방법으로써 그 외의 과실을 이용한 와인 제조에 관한 구체적인 방법 즉, 효모의 첨가량, 당 함량, 기타영양원 및 발효온도 등에 대해서 구체적으로 알려진 바 없다. 또한 저장성을 증진시키기 위해 와인의 구체적인 살균 방법에 대해서도 포도와인을 제외한 다른 과실을 이용하여 제조하는 와인에서도 마찬가지이다.
- [5]
- [6] 이에 본 발명자는 핑크팝 보리수 열매를 이용하여 그 활용도를 향상시키며, 저장성을 증진시키기 위해 와인의 구체적인 살균 방법까지도 포함하는 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법을 개발하기에 이르렀다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명의 목적은 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법을 제공함을 목적으로 한다. 보다 구체적으로 맛과 기능성이 잘 조화된 핑크팝

보리수 열매를 이용한 와인 및 그의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

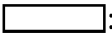
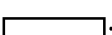
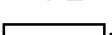
- [8] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- [9] a) 핑크팝 보리수 열매 발효 당액을 제조하는 단계;
- [10] b) 상기 당액의 당도 조절 후 살균하여 냉각하는 단계; 및
- [11] c) 상기 냉각 후 효모를 접종하고 발효하는 단계;
- [12] 를 포함하는 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인의 제조방법을 제공한다.
- [13]
- [14] 본 발명은 상기 b) 단계의 당도 조절 후, 질소원을 0.001~1.0 g/L 첨가하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [15] 상기 질소원은 인산수소2암모늄 ((NH₄)₂HPO₄)인 것이 바람직하다.
- [16] 상기 b) 단계의 당도는 20~26°Brix로 조절하는 것이 바람직하다.
- [17] 상기 b) 단계의 살균은 70~110°C에서 20~40분간 수행하는 것이 바람직하다.
- [18] 상기 c) 단계의 효모는 사카로마이세스 세르비시아 (*Saccharomyces cerevisiae* KCCM 12650), 토루라스포라 델브루이키 (*Torulaspora delbrueckii* KCCM 11299) 또는 자이코사카로마이세스 로우시 (*Zygosaccharomyces rouxii* KCCM 12066)인 것이 바람직하다.
- [19] 상기 효모는 1.0~5.0% (v/v)로 접종하는 것이 바람직하다.
- [20] 상기 c) 단계의 발효는 20~30°C에서 수행하는 것이 바람직하다.
- [21] 본 발명은 상기 c) 단계 후, 살균 및 건조미자를 첨가하고 숙성하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [22] 상기 살균은 60~70°C에서 20~40분간, 상기 숙성은 0~4°C에서 20~40일간 저온숙성하는 것이 바람직하다.
- [23] 상기 건조미자는 0.5~2%로 첨가하는 것이 바람직하다.
- [24]
- [25] 또한, 본 발명은 본 발명의 방법으로 제조된 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인을 제공한다.

발명의 효과

- [26] 본 발명에 의할 경우 핑크팝 보리수를 이용한 와인 제조방법의 표준화와 아울러 효모 접종량, 당 함량, 기타 영양원 첨가량, 발효온도 및 제조된 와인의 살균방법과 같은 환경적인 조건을 제공하며, 이를 기초로 타 과실의 가공을 위한 기초자료와 응용 방향의 확립에도 활용이 될 것이다. 또한, 잉여의 핑크팝 보리수 열매의 소비 촉진과 이를 재배하는 농가의 소득증대에도 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [27] 도 1은 핑크팝 보리수 열매 와인의 제조공정에 관한 것이다.
- [28] 도 2는 핑크팝 보리수 열매 과즙을 이용한 와인 제조 중의 이화학적 특성 변화를 나타낸다.

- [29] 도 3은 오미자 무첨가 및 첨가 와인의 DPPH 라디칼 소거활성을 나타낸다.
 [30] : 오미자 무첨가 와인, : 오미자 첨가와인
 [31] 도 4는 오미자 무첨가 및 첨가 와인의 ABTS 라디칼 소거활성을 나타낸다.
 [32] : 오미자 무첨가 와인, : 오미자 첨가와인
 [33] 도 5는 오미자 무첨가 및 첨가 와인의 환원력에 관한 것이다.
 [34] : 오미자 무첨가 와인, : 오미자 첨가와인
 [35] 도 6은 오미자 무첨가 및 첨가 와인의 FRAP 이다.
 [36] : 오미자 무첨가 와인, : 오미자 첨가와인

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [37] 본 발명의 일실시예에서는,
 [38] a) 핑크팝 보리수 열매 발효 당액을 제조하는 단계;
 [39] b) 상기 당액의 당도 조절 후 살균하여 냉각하는 단계; 및
 [40] c) 상기 냉각 후 효모를 접종하고 발효하는 단계;
 [41] 를 포함하는 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인의 제조방법을 제공한다.
 [42]
 [43] 상기 핑크팝 보리수 열매는 경남 함천군 일대에서만 재배되는 것으로서, 모양은 구형이며 길이가 1 cm이고 다소 짙은맛과 단맛을 가지고 있으며, 10월이 되면 포도송이처럼 열려 붉은 색으로 익는다. 잎은 어긋나고 타원형 또는 긴 타원형으로 윗부분은 짙은 녹색을 띠며, 뒤쪽은 갈색의 비늘털을 가진 은색이다.
 [44] 상기 핑크팝 보리수 열매 발효 당액의 제조는 본 발명의 일실시예에서 파쇄한 핑크팝 보리수 열매와 설탕을 혼합하여 발효시킨 후 여과하여 추출물을 얻고 냉장실에서 보관함으로써 제조할 수 있다.
 [45] 상기 핑크팝 보리수 열매의 발효 당액의 당도는 와인 제조에 적합하도록 알코올 발효를 고려하여 조절하는 것으로, 당도가 지나치게 높을 경우 효모가 증식하지 못하는 바, 20~26°Brix로 조절하는 것이 바람직하다. 알코올 생산량을 고려할 때 24°Brix가 보다 바람직하다.
 [46] 상기 당도를 조절한 후 질소원을 0.001~1.0 g/L 첨가하는 단계를 더 포함하는 것이 바람직하다. 질소원이 알코올 발효에 미치는 영향을 고려할 때 0.5~1.0g/L 질소원을 첨가하는 것이 보다 바람직하다. 질소원을 첨가하는 이유는 알코올 발효 시 과즙에 질소원이 충분하지 않으면 발효의 지연이 일어나는 경우가 있기 때문이다.
 [47] 상기 질소원으로는 인산수소2암모늄 ((NH₄)₂HPO₄)인 것이 바람직하다.
 [48] 상기 질소원을 첨가한 후 살균하는 것이 바람직하고, 70~110°C에서 20~40분간 살균하는 것을 포함할 수 있다. 이와 같이 살균을 하는 이유는 변질을 방지하고 장기간 보존성을 위함이다.
 [49] 상기 살균 후 냉각을 하고 효모를 접종을 하는 것이 바람직하다. 상기 효모는 이에 제한되지 않으나, 사카로마이세스 세르비시아(*Saccharomyces cerevisiae*)

KCCM 12650), 토루라스포라 델브루이키(*Torulaspora delbrueckii* KCCM 11299) 또는 자이고사카로마이세스 로우시(*Zygosaccharomyces rouxii* KCCM 12066)등이 있으나, 사카로마이세스 세르비시아(*Saccharomyces cerevisiae* KCCM 12650)가 보다 바람직하다. 상기 효모를 계대배양한 것으로 알코올 발효를 위한 주모로 사용할 수 있다.

- [50] 상기 효모를 1.0~5.0%(v/v)를 접종하는 것이 바람직하다. 효모의 접종량이 알코올 발효에 미치는 영향을 고려할 때 5.0%(v/v)를 접종하는 것이 보다 바람직하다.
- [51] 상기 효모를 접종한 후 발효를 20~30°C에서 하는 것이 바람직하다. 알코올 생산량, 관능적인 면, 발효 시간 등을 고려할 때 25°C에서 발효하는 것이 보다 바람직하다.
- [52] 본 발명은 상기 c) 단계 후, 살균 및 건오미자를 첨가하고 숙성하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [53] 상기 살균은 60~70°C에서 20~40 분간하는 것이 바람직하고, 상기 건오미자를 0.5~2% 첨가하는 것이 바람직하다. 건오미자를 첨가하는 이유는 와인의 색, 향기 및 맛 등의 관능적인 면, 건강 증진 측면 및 저장성 측면에서 바람직하다 (도 3 내지 6 참조). 또한 살균을 하지 않으면 와인이 아니라 초산발효가 진행되어 식초로 변할 우려가 높기 때문에 이를 방지하기 위함이다.
- [54] 상기 숙성은 0~4°C에서 20~40일간 저온숙성하는 것이 바람직하다. 이는 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인의 저장성 및 관능적인 특성을 고려하기 위함이다.
- [55]
- [56] 또한, 본 발명의 일실시예에서는 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인을 제공한다.
- [57] 상기 와인은 상기 방법으로 제조된 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인인 것이 바람직하다. 본 발명의 일실시예에 따른 와인은 맛의 불균형과 발효식품의 가장 큰 단점인 중의 하나인 맛의 재현성을 극복할 수 있게 된다. 또한 본 발명에 의한 주재료로 이용되는 핑크팝 보리수 열매에는 항산화 및 항암 작용에 뛰어난 효능을 가지고있는 비타민 C 및 카로테노이드 성분들을 다량 함유하고 있어 상기 핑크팝 보리수 열매를 이용하여 제조한 와인을 섭취하게 되면, 섭취자가 저렴한 비용으로 비타민 C와 카로테노이드 화합물이 가지는 여러 가지 효능을 함께 얻을 수 있다.

발명의 실시를 위한 형태

- [58] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 상세히 설명하도록 한다. 하기 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 일 예에 지나지 않으며, 이에 의하여 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.
- [59]

[60] <실시예>

[61] 핑크팝 보리수 열매 와인의 제조방법을 표준화하기 위한 방법은 다음과 같다.

[62]

[63] 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인의 최적 제조방법 선정

[64] 1단계 : 핑크팝 보리수 열매 발효 당액 제조

[65] 4 L 플라스틱 용기에 파쇄한 핑크팝 보리수 열매 1 kg과 설탕 1 kg을 혼합하여 상온에서 3개월간 방치하여 발효시킨 후 거즈로 여과하여 추출물을 얻어 냉장실에서 보관한 후 시료로 사용하였다.

[66]

[67] 2단계 : 알코올 발효 효모

[68] 효모는 한국종균협회(KCCM)에서 분양받은 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM 12650 효모를 사용하여 과즙의 알코올 발효능력을 검토하였다.

[69]

[70] 3단계 : 종 배양과 발효

[71] 냉장고에서 계대배양 보존한 효모 균주를 50 mL YPD (Yeast extract 5.0 g/L, Bacto peptone 5.0 g/L, Dextrose 20 g/L) 액체배지에 효모를 접종한 후 30°C의 회전진탕 배양기에서 160 rpm으로 48시간 종 배양하여 알코올 발효를 위한 주모로 사용하였다. 5 L 발효조에 보리수 열매 과즙을 24 °Brix로 조정하고 (NH₄)₂HPO₄를 0.001~1.0 g/L 첨가한 후 100°C에서 30분간 살균 하고 종 배양한 주모를 5.0% 접종하여 20~30°C에서 7일간 발효시켰다. 발효가 진행되는 동안 24시간 간격으로 발효액을 2분 씩 교반하여 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인을 제조하였다. 또한 핑크팝 보리수 열매 와인의 저장성 및 관능적인 특성을 고려하여 65°C에서 30분간 살균한 후 0-4°C의 저온저장고에서 30일 동안 저온 숙성시켜 최종 핑크팝 보리수 열매 와인을 제조하였다.

[72]

[73] 실험예 1 : 효모의 접종량에 따른 pH, 당도, 갈색도 및 알콜 함량 변화

[74] 본 발명에 의한 핑크팝 보리수 열매를 이용하여 제조한 와인의 pH 측정은 pH 미터 (pH meter : ORION, U.S.A.)를 이용하였으며, 당도는 Abbe refractometer (NOW Co., LTD Japan)를 이용하였고, 갈색도는 분광광도계 (1601, Shimadzu Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 600 nm에서 흡광도로서 표시하였다. 또한 알콜 함량은 시료 100 mL에 물 100 mL를 끓여 희석시킨 후 증류시켜 80 mL를 회수한 후 증류수 20 mL를 넣어 100 mL로 표선을 맞춘 다음 알콜 비중계로 주도를 측정하여 알콜 퍼센트(%, v/v)로 표시하였다.

[75]

효모 접종량이 핑크팝 보리수 과즙의 알코올 발효에 미치는 영향을 살펴본 결과 표 1과 같다. pH는 발효기간이 경과함에 따라 점차적으로 pH가 감소하는 경향을 보였으며, 효모 접종량에 따른 차이는 보이지 않았다. 당도는 발효기간이 경과함에 따라 당도가 감소하는 경향을 보였으며, 효모의 접종량이 증가할수록 당도가 낮아지는 경향을 보였다. 갈색도는 발효기간이 경과함에 따라

점차적으로 증가하는 경향을 보였으며, 알콜 함량도 발효기간이 경과함에 따라 점차적으로 증가하는 경향을 보였다. 따라서 효모의 접종량이 증가할수록 알코올 함량이 증가함을 알 수 있었고 균 접종량 5.0%일 경우 발효 7일째 12.4% 알코올이 생성되어 가장 높은 알콜 함량을 보였다.

[76] 표 1

효모 접종량이 핑크팝 보리수 열매 와인의 알코올발효에 미치는 영향

Yeastconcentrations (%)	Day	pH	°Brix	Browning(O _{D_{600nm}})	Alcohol(% v/v)
1.0	0	5.95	24.2	0.068	0
	1	5.24	23.6	0.272	0.2
	2	4.70	21.8	0.825	1.0
	3	4.56	18.6	1.114	2.8
	4	4.23	16.4	1.277	4.6
	5	4.01	15.2	1.323	6.0
	6	3.85	14.4	1.534	7.4
	7	3.76	13.2	1.617	8.2
2.5	0	5.95	24.2	0.109	0
	1	4.72	22.0	0.424	0.8
	2	4.57	20.2	0.896	2.0
	3	4.37	17.6	1.188	3.6
	4	4.18	15.8	1.365	5.2
	5	3.91	14.6	1.462	6.6
	6	3.74	13.2	1.627	9.0
	7	3.70	11.8	1.703	10.8
5.0	0	5.95	24.2	0.212	0
	1	4.61	21.4	0.829	1.8
	2	4.18	19.0	1.254	3.6
	3	4.02	16.0	1.451	4.2
	4	3.85	14.2	1.562	6.4
	5	3.72	12.4	1.681	9.8
	6	3.66	10.6	1.731	12.0
	7	3.60	9.4	1.802	12.4

[77] 상기 표 1은 80°C에서 30분간 살균한 후 냉각된 핑크팝 보리수 열매 과즙 (24 °Brix)에 *Sacch. cerevisiae* KCCM 12650 균주를 1.0, 2.5 및 5.0%(v/v) 접종한 후 25°C에서 7일간 배양하였다.

[78]

[79] **실험예 2 : 과즙의 당도에 따른 pH, 당도, 갈색도 및 알코올 함량 변화**

[80] 일반적인 와인의 알코올 함량은 4-9% 전후로 알코올 함량이 12% 이하가 되면 와인이 쉽게 부패하는 경향이 있으며, 당도가 지나치게 높을 경우 효모가 증식을 하지 못한다. 따라서 핑크팝 보리수 과즙의 당도를 20-26 °Brix로 조정한 후 알코올 발효 경향을 조사한 결과 표 2와 같다. pH와 당도는 발효기간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 보였으며, 갈색도는 증가하는 경향을 보였다. 또한 당도가 20-24°Brix까지는 알코올 생산량이 증가하는 경향을 보였고, 당도가 24°Brix일 때 12.6%로 가장 많은 알코올이 생성되는 것으로 나타났다. 반면 당 농도가 26°Brix 일 때는 오히려 알코올 생산량이 다소 감소하였다.

[81] 표 2

과즙의 당도가 핑크팝 보리수 열매 와인의 알코올발효에 미치는 영향

°Brixconcentratio ns	Day	pH	°Brix	Browning(O D _{600nm})	Alcohol(% v/v)
20	0	5.94	20.0	0.218	0
	1	4.37	17.8	1.054	1.8
	2	4.23	14.2	1.454	5.6
	3	4.18	8.4	1.951	8.6
	4	3.83	8.0	1.953	8.8
	5	3.72	7.8	1.917	9.2
	6	3.62	7.4	1.867	9.4
	7	3.56	7.2	1.859	10.0
22	0	5.94	22.0	0.218	0
	1	4.42	19.5	1.036	1.8
	2	4.33	17.0	1.347	3.6
	3	4.21	12.0	1.681	7.8
	4	3.96	9.8	1.730	10.2
	5	3.72	8.7	1.831	11.0
	6	3.65	8.4	1.866	11.4
	7	3.58	8.2	1.850	11.6
24	0	5.94	24.0	0.218	0
	1	4.57	21.4	0.984	1.6
	2	4.39	19.2	1.218	3.2
	3	4.20	15.0	1.433	5.2
	4	3.94	12.2	1.696	9.4
	5	3.80	10.2	1.773	11.8
	6	3.64	9.8	1.887	12.0
	7	3.58	9.0	1.891	12.6

26	0	5.94	26.0	0.218	0
	1	5.65	24.2	0.781	1.0
	2	5.60	23.0	0.937	2.2
	3	4.84	19.2	1.271	4.8
	4	4.55	16.6	1.490	6.2
	5	4.37	14.0	1.747	9.6
	6	4.26	13.4	1.784	11.4
	7	4.21	12.0	1.783	12.0

[82] 상기 표 2는 핑크팝 보리수 열매 과즙을 20-26 °Brix까지 보당한 후 80°C에서 30분간 살균하고 냉각한 후 *Sacch. cerevisiae* KCCM 12650 균주를 5.0%(v/v) 접종하여 25°C에서 7일간 배양한 것이다.

[83]

[84] **실험예 3: 질소원의 첨가량에 따른 pH, 당도, 갈색도 및 알코올 함량 변화**

[85] 알코올 발효 시 과즙에 질소원이 충분하지 않으면 발효 지연이 일어나는 경우가 있어 핑크팝 보리수 열매 과즙에 질소원인 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 0.001-1.0 g/L까지 첨가하여 알코올발효 경향을 살펴본 결과 표 3과 같다. 질소원의 첨가유무에 관계없이 pH와 당도는 발효기간이 경과함에 따라 점차적으로 감소하는 경향을 보였으며, 갈색도와 알코올 함량은 점차적으로 증가하는 경향을 보였다. 또한 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 1 g/L까지 첨가하여 알코올 발효를 살펴본 결과 발효 7일째 0.5 g/L이상 첨가한 시료에서 알코올 함량이 13.4% 이상 생성되었다.

[86] 표 3

(NH₄)₂HPO₄의 농도가 핑크팝 보리수 와인의 알코올 발효에 미치는 영향

(NH ₄) ₂ HPO ₄ (g/L)	Day	pH	°Brix	Browning(O D _{600nm})	Alcohol(% v/v)
0	0	5.96	23.8	0.211	0
	1	4.63	21.2	0.821	1.8
	2	4.24	19.2	1.261	3.4
	3	4.01	16.4	1.487	4.2
	4	3.87	14.4	1.573	6.2
	5	3.72	12.6	1.701	9.8
	6	3.64	10.8	1.762	11.8
	7	3.60	10.0	1.892	12.0
0.25	0	5.96	23.8	0.211	0
	1	4.61	21.0	1.287	1.8
	2	4.19	18.8	1.503	3.6
	3	3.97	16.0	1.623	4.4
	4	3.81	14.4	1.725	6.4
	5	3.69	12.0	1.796	10.2
	6	3.64	10.4	1.814	12.0
	7	3.59	9.6	1.911	12.4
0.5	0	5.96	23.8	0.211	0
	1	4.55	20.6	1.124	2.4
	2	4.11	18.2	1.617	3.8
	3	3.87	15.2	1.689	5.8
	4	3.68	13.4	1.754	8.2
	5	3.66	11.8	1.856	10.8
	6	3.58	10.2	1.914	12.2
	7	3.56	8.8	1.852	13.4

1.0	0	5.96	23.8	0.211	0
	1	4.54	20.4	1.132	2.4
	2	4.09	18.4	1.628	3.8
	3	3.88	15.0	1.701	5.6
	4	3.70	13.0	1.762	8.4
	5	3.67	11.6	1.863	10.8
	6	3.61	10.0	1.920	12.4
	7	3.58	8.6	1.861	13.4

[87] 상기 표 3은 핑크팝 보리수 열매 과즙(24 °Brix)에 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 농도가 0, 0.25, 0.5 및 1.0 g/L 첨가한 후 80°C에서 30분간 살균하고 냉각한 후 *Sacch. cerevisiae* KCCM 12650 균주를 5.0%(v/v) 접종하여 25°C에서 7일간 배양한 것이다.

[88]

[89] **실험예 4 : 발효온도에 따른 pH, 당도, 갈색도 및 알코올 함량 변화**

[90] 발효온도가 핑크팝 보리수 열매 과즙의 알코올 발효에 미치는 영향을 살펴본 결과는 표 4와 같다. 발효기간이 경과함에 따라 pH와 당도는 감소하였고, 갈색도는 증가하는 경향을 보였다. 온도에 관계없이 발효기간이 경과함에 따라 알코올 함량이 증가하는 경향을 보였으나 30°C에서 발효 시킨 시료에서 가장 많은 알코올 발효가 일어났으나 이상취가 나타나 알코올 생산량과 관능적인 면, 발효 시간 등을 고려할 때 발효 온도는 25°C가 적합한 것으로 판단되었다.

[91] 표 4

발효온도가 핑크팝 보리수와의 알코올 발효에 미치는 영향

Temperature (°C)	Day	pH	°Brix	Browning(O D _{600nm})	Alcohol(%, v/v)
20	0	5.98	24.0	0.218	0
	1	4.62	21.6	1.125	1.8
	2	4.27	19.4	1.624	3.4
	3	4.06	16.4	1.698	4.2
	4	3.91	14.2	1.737	6.4
	5	3.76	12.2	1.856	10.0
	6	3.67	10.4	1.912	11.4
	7	3.60	9.6	1.932	12.8
25	0	5.98	24.0	0.218	0
	1	4.57	20.4	1.132	2.4
	2	4.16	17.8	1.634	4.0
	3	3.84	15.0	1.701	5.8
	4	3.66	13.2	1.768	8.4
	5	3.64	11.6	1.866	10.6
	6	3.60	10.0	1.9020	12.0
	7	3.58	8.8	1.851	13.6
30	0	5.98	24.0	0.218	0
	1	4.48	19.2	1.256	3.0
	2	4.06	16.8	1.678	4.8
	3	3.68	14.2	1.798	7.8
	4	3.60	10.2	1.924	12.0
	5	3.58	9.4	1.951	12.6
	6	3.62	8.6	1.874	13.2
	7	3.66	8.2	1.818	13.8

[92] 상기 표 4는 핑크팝 보리수 열매 과즙 (24 °Brix)에 (NH₄)₂HPO₄ 농도가 0.5 g/L 첨가한 후 80°C에서 30분간 살균하고 냉각한 후 *Sacch. cerevisiae* KCCM 12650 균주를 5.0% (v/v) 접종하여 20, 25 및 30°C에서 7일간 배양한 것이다.

[93] 위의 결과를 종합하여 최적 발효조건을 선정 한 후 선정된 발효조건을 토대로

와인을 제조하였다. 즉, 핑크팝 보리수 열매 과즙의 당도는 24 °Brix로 조정하고 5% 효모를 접종하여 25°C에서 발효를 진행시킨 결과 도 2에서 나타난 바와 같은 전형적인 발효 경향을 얻었다.

- [94] 발효기간이 경과함에 따른 pH 변화는 도 2A에서 보는 바와 같이 발효기간이 경과함에 따라 점차적으로 감소하여 발효 7일째 pH 3.62가 되었다. 당도 또한 감소하여 발효 7일이 경과하였을 때는 당도가 8.8°Brix 였으며 (도 2B), 갈색도 점차적으로 증가하였다 (도 2C). 알코올 생성은 발효시간이 1일 경과 (세포 증식이 대수 증식기 중기에 해당하는 시점)하면서부터 급격히 증가하여 발효 7일에서 13.6%의 알코올이 생성되었다 (도 2D).

[95]

[96] **실험예 5 : 핑크팝 보리수 열매 와인의 이화학적 특성**

- [97] 본 발명에 의해 개발된 핑크팝 보리수 열매 와인의 pH측정은 pH 미터 (pH meter : ORION, U.S.A)를 이용하였으며, 당도는 Abbe refractometer (NOW CO., LTD Japan)를 이용하였고, 산도는 와인 10 mL에 0.1 N-NaOH를 가하여 pH 8.3이 될 때까지 적정하고, 이 때 소비된 0.1 N NaOH의 mL량을 구연산으로 환산하여 산도를 계산하였다. 색도측정은 색차계 (CR-300, Minolta, Japan)를 이용하였다. 총 페놀성 화합물 함량을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu's 방법을 이용하였다. 와인 1 mL에 3차 증류수 9 mL를 첨가한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응용액에 7% Na₂CO₃ 용액 10 mL를 넣어 다시 혼합한 다음 3차 증류수로 25 mL로 정용하였다. 이 혼합 용액을 23°C에서 2시간 동안 정치한 후 760 nm에서 absorbance를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성된 표준곡선을 이용하여 검량선을 작성하여 총 페놀성 화합물 함량을 계산하였다.

[98] 표 5

핑크팝 보리수 열매 와인의 pH, 산도, 당도, 색도 및 총 페놀성 화합물 함량

		핑크팝 보리수 열매 와인
pH		3.62± 0.06
산도(%)		0.38± 0.07
당도(°Brix)		8.81± 0.01
색도	밝기(L)	96.83± 0.06
	적녹도(a)	0.76± 0.01
	황청도(b)	8.64± 0.02
총 페놀성 화합물(μg/mL)		3.08± 0.01

- [99] 핑크팝 보리수 열매 와인의 pH, 산도 및 당도를 측정한 결과 pH는 3.62이었고, 산도는 0.38% 및 당도는 8.81 °Brix를 나타내었다. 색도 중 밝기를 나타내는

L값은 96.83, 적녹도를 나타내는 a값은 0.76 및 황청도를 나타내는 b값은 8.64를 보였다. 또한 총 페놀성 화합물의 함량은 3.08 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다.

[100]

[101] 실시예 6: 핑크팝 보리수 열매 와인의 무기성분 함량 측정

[102] 본 발명에 의한 와인의 무기성분 함량 측정은 유도결합플라즈마분광계(Optima 5300DV, Perkin Elmer, U.S.A.)로 분석하였다

[103] 표 6

핑크팝 보리수 열매 와인의 무기성분 함량 단위 : mg/100 g

	핑크팝 보리수 열매 와인
Na	26.21 $\pm$ 0.95
Mg	1.70 $\pm$ 0.04
K	56.25 $\pm$ 1.02
Ca	10.58 $\pm$ 0.20
Mn	- ¹⁾
Zn	-
P	111.32 $\pm$ 2.99
Fe	3.43 $\pm$ 0.19
Total	209.48 $\pm$ 6.44

[104] ¹⁾ 검출되지 않음.

[105] 핑크팝 보리수 열매 와인의 무기성분을 ICP를 이용하여 분석한 결과 와인에 함유되어 있는 주요 무기성분으로는 P, K 및 Na로 나타났으며, 그 중에서 P이 111.32 mg/100 g과 K이 56.25 mg/100 g 으로 가장 많이 함유되어 있었다.

[106]

[107] 실시예 7: 핑크팝 보리수 열매 와인의 아미노산 함량 측정

[108] 본 발명에 의한 핑크팝 보리수 열매 와인의 아미노산 함량 측정은 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, Pharmacia Biotech Biochrom Ltd. Co., UK)를 이용하여 분석하였다.

[109] 표 7

핑크팝 보리수 열매 와인의 아미노산 함량 단위 : mg/100 g

Amino acids	핑크팝 보리수 열매 와인
Aspartic acid	8.91
Threonine	2.23
Serine	3.61
Glutamic acid	14.09
Proline	29.52
Glycine	5.27
Alanine	11.95
Cystine	- ¹⁾
Valine	3.36
Methionine	-
Isoleucine	1.30
Leucine	2.44
Tyrosine	1.61
Phenylalanine	4.23
Histidine	1.67
Lysine	5.20
Arginine	3.53
Total amino acid	98.92

[110] ¹⁾ 검출되지 않음.

[111] 핑크팝 보리수 열매 와인에 함유되어 있는 아미노산 함량을 아미노산 자동분석기를 이용하여 분석한 결과 주요 아미노산으로는 proline, glutamic acid 및 alanine이었으며, 그 함량은 각각 29.52, 14.09 및 11.95 mg/100 g이었다. 또한 총 아미노산 함량은 98.92 mg/100 g이었다.

[112]

[113] 실시예 8: 핑크팝 보리수 열매 와인의 관능검사

[114] 핑크팝 보리수 열매 와인의 관능검사는 훈련된 10명의 관능검사요원에 의해 실시하였으며, 각 시료에 대하여 색, 향기, 맛 및 종합적인 기호도를 9점법으로 측정하였다.

[115] 표 8

핑크팝 보리수 열매를 이용하여 제조한 와인의 관능검사 결과¹⁾

	색	향기	맛	전체적인기호도
오미자 무첨가와인	5.21±0.42 ^b	5.63±0.36 ^b	5.65±0.35 ^b	5.85±0.37 ^b
오미자첨가와인	6.32±0.27 ^a	6.24±0.52 ^a	6.08±0.43 ^a	6.22±0.39 ^a

[116] ¹⁾ 1~9 scales : 1, 매우 나쁘다.; 5, 보통이다.; 9; 매우 좋다.

[117] 색, 향기 및 맛에서 오미자 무첨가구 보다는 오미자를 첨가하여 제조한 핑크팝 보리수 열매 와인이 유의적으로 높은 기호도를 보였으며, 전체적인 기호도에서도 오미자 무첨가구 5.85보다 오미자 첨가와인이 6.22로 높은 기호도를 보였다.

[118]

[119] **실험예 9 : 핑크팝 보리수 열매 와인의 DPPH 라디칼 소거활성**

[120] 와인 1 mL에 에탄올로서 1.5×10^{-4} M 농도가 되게 한 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl 용액 4 mL씩을 vortex 로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도 (optical density, O.D.)를 측정하였다.

[121] 핑크팝 보리수 열매를 이용하여 제조한 와인과 관능검사 결과 기호도가 높게 나타난 오미자 첨가 와인의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과 희석배수가 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거활성이 감소하는 경향을 보였으며, 오미자를 첨가하지 않은 와인 원액(32.30%)에 비하여 오미자를 첨가한 와인 (79.42%)에서 더 높은 DPPH 라디칼 소거활성을 보였다 (도 3).

[122]

[123] **실험예 10 : 핑크팝 보리수 열매 와인의 ABTS 라디칼 소거활성**

[124] 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM $K_2S_2O_8$ 88 μ L를 섞어 어두운 곳에 14-16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol과 약 1 : 88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7 ± 0.02 가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 20 μ L와 ABTS solution 980 μ L를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[125] 핑크팝 보리수 열매를 이용하여 제조한 와인과 오미자 첨가 와인의 ABTS 라디칼 소거활성을 측정한 결과 오미자를 첨가하지 않은 와인에서는 전혀 활성이 나타나지 않았으나 오미자를 첨가한 와인 원액에서는 76.20%의 높은 ABTS 라디칼 소거활성을 보였다(도 4).

[126]

[127] **실험예 11 : 핑크팝 보리수 열매 와인의 환원력**

[128] 시료 2.5 mL에 sodium phosphate buffer (2.5 mL, 200 mM, pH 6.6)와 1% potassium ferricyanide (2.5 mL)를 혼합시킨 후 혼합물을 50°C에서 20분 동안 incubation 시킨

다음 trichloroacetic acid (2.5 mL, 10%, w/v)를 첨가하여 650 × g에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리한 상정액 (5 mL)에 탈이온수 (5 mL)와 1% ferric chloride 1 mL를 첨가시킨 후 UV-spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- [129] 핑크팝 보리수 열매를 이용하여 제조한 와인과 오미자 첨가 와인의 환원력을 측정한 결과 희석배수가 증가함에 따라 환원력이 감소하는 경향을 보였으며, 오미자를 첨가하지 않은 와인 원액 (흡광도 값 0.72)에 비하여 오미자를 첨가하여 제조한 와인 (흡광도 값 1.54)이 2배 정도 높은 항산화 활성을 보였다 (도 5).

[130]

[131] **실험예 12 : 핑크팝 보리수 열매 와인의 ferric reducing/antioxidant power**

- [132] FRAP 방법은 colored ferrous tripyridyl triazine complex에 의해 ferric ion이 ferrous로 전환되어지는 과정을 분석함으로써 시료 내의 총 항산화력을 측정하는 방법으로 사용되는 시약은 300 mM sodium acetate buffer (pH 3.6)와 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine(TPTZ) reagent, 그리고 20 mM FeCl₃이며, TPTZ reagent는 10 mM의 TPTZ를 40 mM HCl에 용해시켰다. Acetate buffer, TPTZ reagent 및 FeCl₃ solution을 혼합하여 (10 : 1 : 1, v/v/v) 37°C에서 10-15분간 incubation 시켜두었다. 시료와 pre-warmed working FRAP reagent를 96-well plate에 분주한 후 약 15분간 incubation시키고 microplate reader (680, Bio-rad Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 590 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- [133] 핑크팝 보리수 열매를 이용하여 제조한 와인과 오미자 첨가 와인의 FRAP활성을 측정한 결과 희석배수가 증가함에 따라 FRAP활성이 감소하는 경향을 보였으며, 오미자를 첨가하지 않은 와인 원액 (흡광도 값 0.54)에 비하여 오미자를 첨가하여 제조한 와인 (흡광도 값 1.08)이 2배 정도 높은 FRAP 활성을 보였다 (도 6). 따라서 핑크팝 보리수 열매를 이용하여 와인을 제조한 후에는 관능적인 측면, 건강증진 측면 및 저장성 증진 측면에서 오미자를 첨가하여 제조하는 것이 더욱 더 좋은 것으로 확인되었다.

[134]

- [135] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예들을 설명하였지만, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

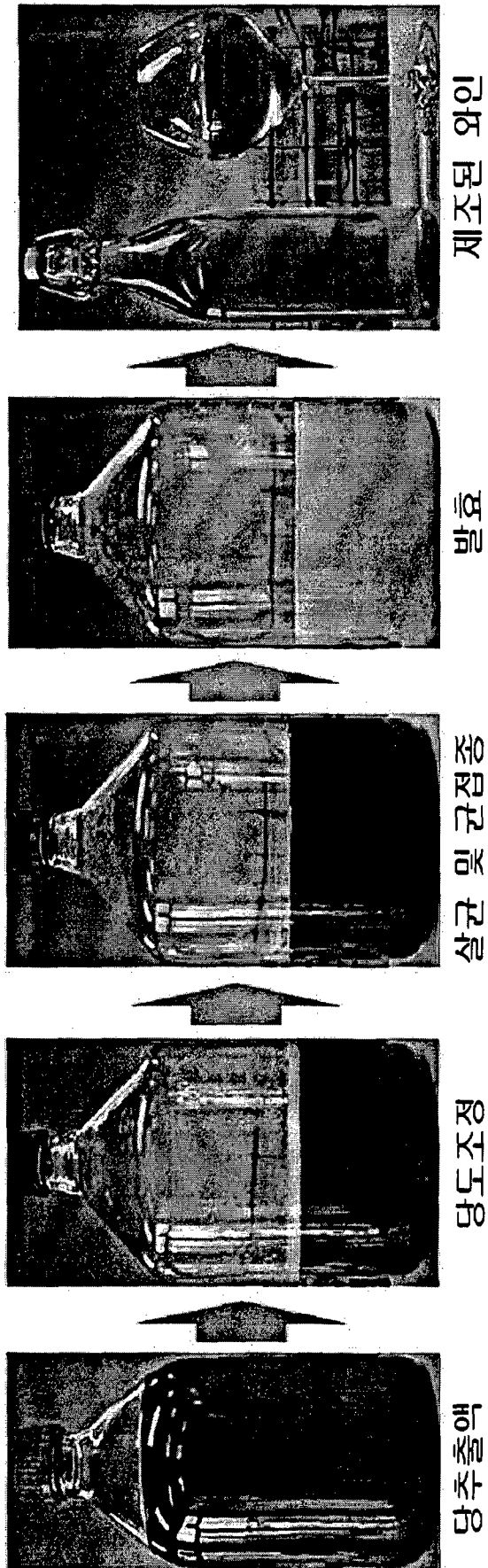
청구범위

- [청구항 1] a) 핑크팝 보리수 열매 발효 당액을 제조하는 단계;
b) 상기 당액의 당도 조절 후 살균하여 냉각하는 단계; 및
c) 상기 냉각 후 효모를 접종하고 발효하는 단계;
를 포함하는 핑크팝 보리수 열매를 이용한 와인의 제조방법.
- [청구항 2] 제 1항에 있어서,
상기 b) 단계의 당도 조절 후, 질소원을 0.001~1.0 g/L 첨가하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 3] 제 2항에 있어서,
상기 질소원은 인산수소2암모늄 ((NH₄)₂HPO₄)인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 4] 제 1항에 있어서,
상기 b) 단계의 당도를 20~26°Brix로 조절하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 5] 제 1항에 있어서,
상기 b) 단계의 살균은 70~110°C에서 20~40분간 수행하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 6] 제 1항에 있어서,
상기 c) 단계의 효모는 사카로마이세스 세르비시아 (*Saccharomyces cerevisiae* KCCM 12650), 토루라스포라 델브루이키 (*Torulaspora delbrueckii* KCCM 11299) 또는
자이고사카로마이세스 로우시 (*Zygosaccharomyces rouxii* KCCM 12066)인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 7] 제 1항 또는 제 6항에 있어서,
상기 효모를 1.0~5.0% (v/v) 접종하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 8] 제 1항에 있어서,
상기 c) 단계의 발효를 20~30°C에서 수행하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 9] 제 1항에 있어서,
상기 c) 단계 후, 살균 및 건오미자를 첨가하고 숙성하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 10] 제 9항에 있어서,
상기 살균은 60~70°C에서 20~40분간, 상기 숙성은 0~4°C에서 20~40일간 저온숙성하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 11] 제 9항에 있어서,
상기 건오미자를 0.5~2% 첨가하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

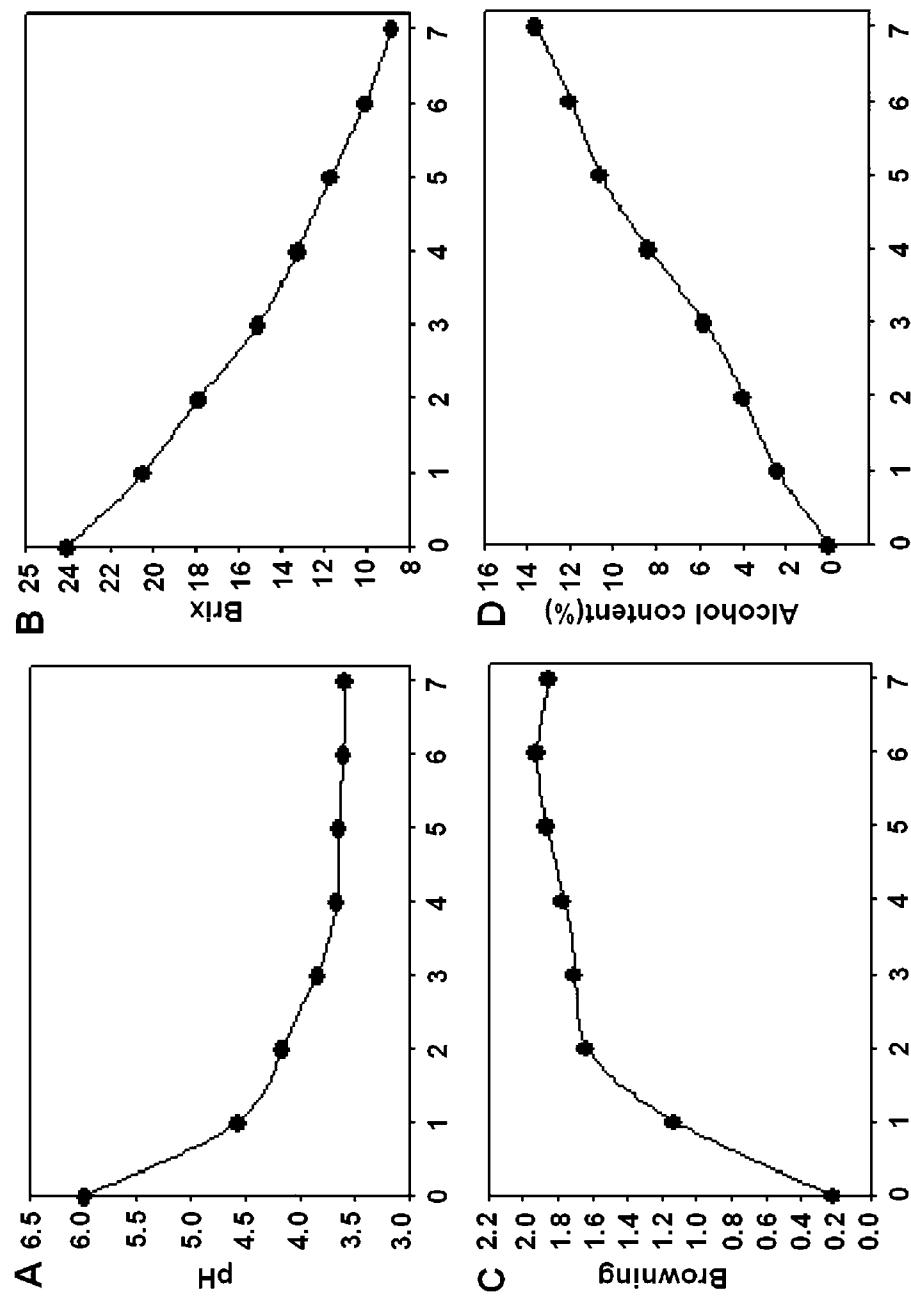
[청구항 12]

제 1항 내지 제 11항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된, 핑크팝
보리수 열매를 이용한 와인.

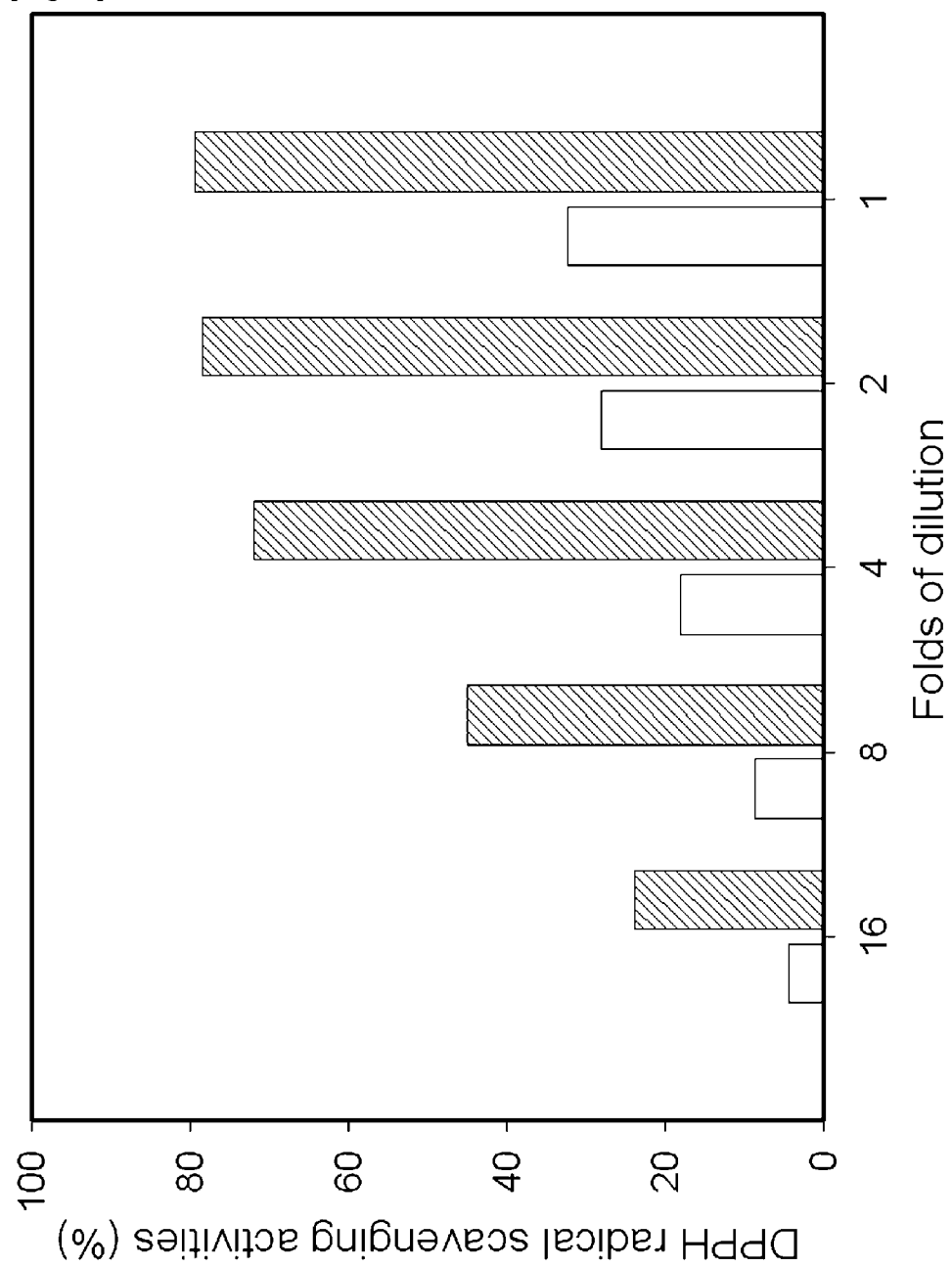
[Fig. 1]



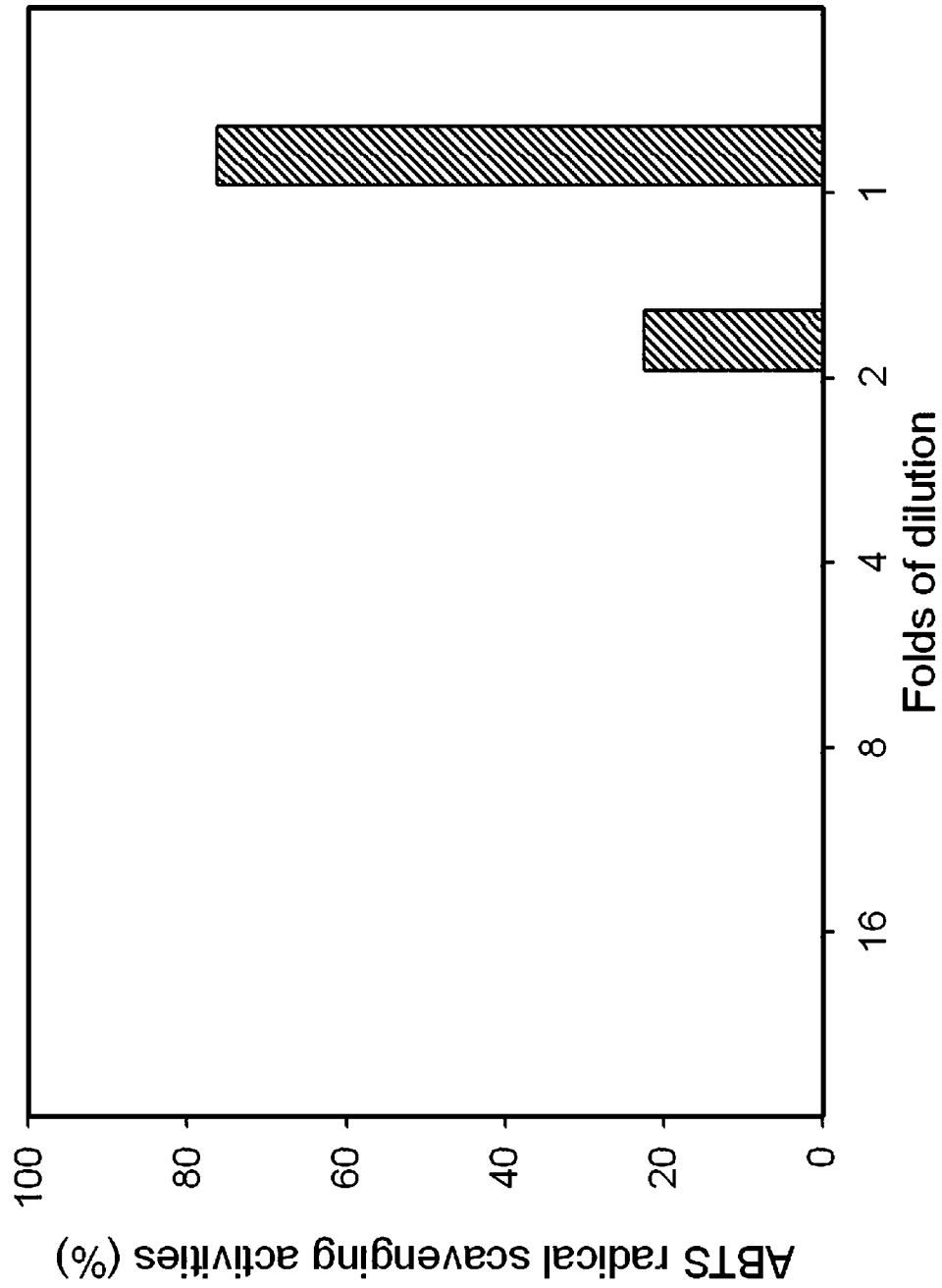
[Fig. 2]



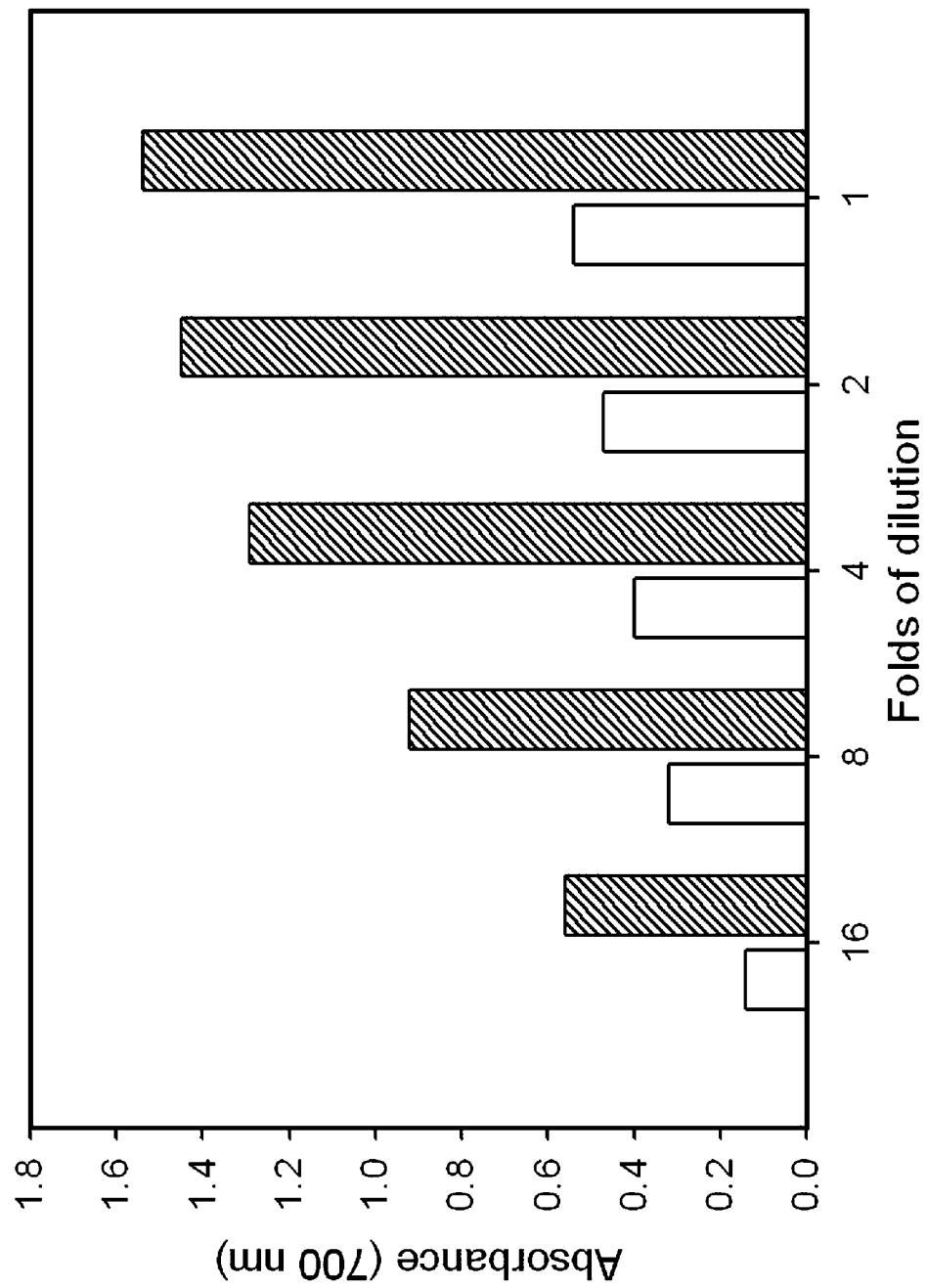
[Fig. 3]



[Fig. 4]



[Fig. 5]



[Fig. 6]

