

쌀·포도 혼합 발효주의 갈변특성 및 갈변저해방법

구하나·육철¹·김재식*

경북대학교 발효생물공학과, ¹영동대학교 식품공학과

Browning and Its Inhibition in Fermentation of Rice-grape Wine

Ha-Na Koo, Cheol Yook¹, and Jae-Sik Kim*

Department of Fermentation Biotechnology, Kyungpook National University

¹Department of Food Science & Technology, Youngdong University

Abstract The objective of this study was to investigate the effects of browning inhibitors during fermentation and storage of rice-grape wine. Bentonite, polyvinylpyrrolidone (PVPP), and potassium metabisulfite were added to rice-grape wine during fermentation and storage in order to find an effective method of inhibiting browning. Total phenolics content, pH, amino acidity, hydroxymethylfurfural content, and absorbance at 420 nm were measured during storage to assess the effects of the different browning substrates. Potassium metabisulfite was the most effective browning inhibitor. Sensory evaluation also showed that rice-grape wine treated with potassium metabisulfite was highly preferable in terms of color, taste, flavor, and overall quality.

Key words: rice-grape wine, browning reaction, PVPP, polyphenol oxidase

서론

한국의 와인시장은 연평균 25%씩 고성장을 하면서 최근 웰빙(Well-being) 바람과 함께 급성장하고 있다(1). 그러나 최근 외국산 포도주의 수입 증가와 국내 포도주의 산업부진으로 국내산 포도주의 시장 점유율이 갈수록 낮아지는 한편(2), 세계무역기구의 2004년 4월 1일부로 발효된 한·칠레간 자유무역협정 등으로 인해 국제 경쟁력이 뒤지는 우리나라의 포도농업은 더욱 더 어려운 실정이다(3). 이러한 변화에 대응하기 위해 국내산 포도주의 품질 향상을 통한 국산 포도주의 이미지를 개선하는 것이 일차적 과제이다(4).

이러한 일환으로 쌀과 포도를 혼합해 발효시킨 발효주에 대한 연구(5)가 있었는데 부족한 당 원료로 설탕 대신 전분질 원료를 사용했을 시 포도에는 없는 부드러운 맛을 가지게 되며, 산미가 감소하고 알코올 농도는 높일 수 있는 쌀·포도 혼합 발효주의 제조 적성을 보고하고 있다. 또 곡류와 과실을 이용한 발효주의 제조방법에 관한 특허(6)에서는 쌀을 증가하여 1차 발효시킨 술덧에 포도, 사과, 머루, 매실을 파쇄, 착즙, 여과하여 만든 과즙을 넣고 2차 발효시켜 여과하지 않은 탁주형태로 한 곡류·과실 발효주 제조방법과 상기 최종 발효 술덧을 청정 여과하여 약주 형태로 제조한 곡류·과실 발효주를 제조하였다. 이런 연구와 활동들은 최근 일어나고 있는 전통주 부흥과 함께 웰빙 바람에 의한 영향을 받은 것으로 생각되어지며, 국산 포도주 열세 속에서

우리나라 특유의 포도주를 개발해내고, 국산 포도주에 대한 이미지를 개선시킬 수 있을 뿐만 아니라 남아도는 쌀과 포도를 양조용으로 이용하면서 그 재고를 줄이는데 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

그러나 쌀·포도 혼합 발효주를 장기간 저장하다보면 갈변현상이 생겨 포도주의 색이 갈색으로 짙어져 관능적으로 좋지 못한 문제점이 발생하게 된다. 갈변현상은 효소적인 갈변과 비효소적인 갈변으로 나뉘어 있는데 이러한 반응들은 상품의 질에 상당한 영향을 주므로 식품산업에서 이를 막는 것은 매우 중요하다. 포도주의 갈변현상은 주로 폴리페놀 성분이 산화되어 생기는 효소적인 갈변이 주로 나타나는데 이에 대한 포도주의 갈변 억제 방법으로는 아황산, pectinase, 탄닌, 열, polyvinyl pyrrolidone(PVPP) 등의 처리법 등이 이용되고 있다(7). 또 이에 대한 연구로는 백포도주 양조 중 페놀류의 함량과 갈변도에 관한 연구(8)와 와인 저장 중 산화적 갈변의 방지에 대한 연구(9) 등이 있다. 그러나 곡류와 과실을 혼합 발효시킨 발효주나 혹은 약주에 과실 성분을 첨가한 주류는 효소적인 갈변과 비효소적인 갈변현상이 나타나고 있지만 구체적인 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 쌀을 혼합해 발효시킨 포도주의 발효특성과 갈변특성을 파악하고 다양한 갈변저해 첨가제를 사용하여 숙성 기간 동안 품질의 변화와 갈변의 억제 정도를 관찰하고, 저장성을 증대시켜 새로운 개념의 쌀을 혼합하여 발효시킨 포도주를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 포도는 2003년도 9월 경북 영천에서 수확한 Muscat Bailey A 품종을 사용하며, 쌀은 2003년도 경북 의성에서 수확한 일반미를 사용하였다. 당화효소제로는 *Rhizopus* sp.이 생

*Corresponding author: Jae-Sik Kim, Department of Fermentation Biotechnology, Kyungpook National University, 1370 Sankyuk-dong, Puk-gu, Daegu, Korea
Tel: 82-53-950-7339
Fax: 82-53-950-7339
E-mail: dstsik@mail.knu.ac.kr
Received April 14, 2006; accepted June 2, 2006

산한 역가 2,000의 정제효소 Sumizyme(Shin Nihon Chemical Co., Japan)을 사용하였고, 발효제는 활성건조효모인 *Saccharomyces cerevisiae* Fermivin (Gist-brocade, Chile) 제품을 사용하였다. 갈변저해제로는 bentonite(Oriental chemical industries, Korea), polyvinylpyrrolidone (Sigma, USA), 메타중이황산칼륨(K₂S₂O₅, 대동화학, 일본)을 사용하였다.

쌀·포도 발효주 담금 방법

쌀을 혼합한 포도주 발효는 1단 담금으로 쌀을 담금하고, 2단 담금에 전처리한 포도 파쇄액을 첨가하여 발효시켰다(5). 2 kg의 쌀을 여러 번 세척한 다음 2시간 물에 불린 후, 1시간 동안 물 빼기를 하고 믹서기(한일전기주식회사, 한국)로 곱게 분쇄한 다음 유리 발효조(5 L)에 생쌀 기준으로 1.5배의 물과 0.4%(w/w)의 효모 및 0.15%(w/w)의 당화효소제를 혼합한 후, 28°C 품온을 유지하면서 발효를 하였다. 발효 2일이 경과한 후 2단 담금용으로 제경하고 파쇄한 포도 5 kg을 1단 담금한 술덧에 첨가한 후 25°C 품온을 유지하면서 발효를 수행하였다. 쌀을 혼합한 포도주 발효는 7일 후 발효전으로부터 이산화탄소의 분출이 현저히 줄고 알코올 농도가 최대치에 이르렀을 때 발효를 종료하고 술덧을 여과하여 앙금질 하면서 12°C에서 60일 동안 숙성시켰다.

갈변억제 첨가제의 처리

앙금질한 쌀·포도 발효주에 메타중이황산칼륨은 전체량의 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm 첨가하고, polyvinylpyrrolidone(PVPP)는 각각 0.02, 0.05, 0.1%(w/v)를 첨가하고 1시간 교반한 후 24시간 정치한다. 이용한 PVPP는 앙금제거와 여과단계에서 제거하였다. Bentonite는 각각 0.15, 0.3, 0.5%(w/v) 처리한 후 5일간 방치하고 여과하였다.

페놀함량 분석

Total phenol 함량은 Folin-Denis법(10)에 따라 비색 정량하였다. 즉 시료를 일정하게 희석한 검액 2 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 2 mL를 첨가하여 혼합한 다음 3분 후 10% Na₂CO₃ 2 mL를 첨가하여 진탕한 다음 실온에서 1시간 방치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질로는 gallic acid를 5-50 µg/mL의 농도로 조제하여 사용하였다.

유리 아미노산 정량

Formol(11)법에 따라 아미노태질소(amino nitrogen) 함량을 측정하였다.

PPO(Polyphenoloxidase) 활성 측정

Polyphenol oxidase 활성은 Archer and Palmer의 방법(12)을 수정하여 측정하였다. 각 시료 5 g에 1% carbowax 6000이 함유된 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5) 10 mL를 혼합하고 원심분리기에서 8000 rpm으로 20분간 원심분리한 상등액을 효소 추출물로 사용하였다. 즉, 3 mL 되도록 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5) 1.2 mL, 효소추출물 0.3 mL 및 기질로서 5 mM chlorogenic acid 1.5 mL를 혼합하여 반응시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하여 효소활성으로 나타내었다. 효소의 활성은 효소액 0.1 mL가 1분간에 0.001의 흡광도를 증가시킨 것을 1 unit로 하였다.

Hydoxymethyl furfural(HMF) 측정

Hydoxymethyl furfural(HMF)는 다음과 같이 측정하였다(13). 시료 약 5 mL와 증류수 25 mL과 혼합한 다음 15%(w/v) 페로시안

화칼륨 용액 0.5 mL를 첨가하고 30%(w/v) 초산아연 용액 0.5 mL를 혼합한 다음 500 mL로 정용하여 여과한 후, 처음 여액 10 mL는 버리고 나머지 여액을 시험용액으로 하였다. 시험 용액 각 5 mL를 2개의 시험관에 취하고 시험 용액관에는 증류수 5 mL, 공시험 용액관에는 0.2%(w/v) 아황산수소나트륨 용액을 5 mL 넣어 잘 혼합한 다음 시험용액은 증류수를, 대조구는 0.1%(w/v) 아황산수소나트륨 용액으로 하여 284 nm 및 336 nm에서 각각의 흡광도를 측정하여 아래 식으로 계산하였다.

$$HMF (mg/kg) = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 149.7 \times 5}{S}$$

A₂₈₄ 및 A₃₃₆: 각 파장(nm)에서의 흡광도치(시험용액·공시험용액, S: 검체량(g))

갈변도 및 갈변저해도 측정

각 첨가제를 처리한 시험구를 한 달간 저장하면서 갈변 억제 정도를 갈색도로서 관찰하였다. 원심분리를 하여 단백질을 제거한 후 spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 갈변 저해 효과 측정을 위해 갈변저해도를 측정하였는데 대조구와 처리구를 420 nm에서 흡광도를 재고 아래와 같이 계산하였다. 갈변 저해율의 값이 높을 수록 갈변도 저해에 효과가 있음을 나타낸다.

$$\text{Degree of browning inhibition}(\%) = \frac{\Delta A_{420, \text{control}} - \Delta A_{420, \text{treatment}}}{\Delta A_{420, \text{control}}} \times 100$$

색도 및 Hue, Intensity

색도는 colorimeter(Minolta RS-232C, Japan)를 이용하여 L, a, b값을 측정하였다(14).

L: Degree of whiteness (white +100 ↔ 0 black)

a: Degree of redness (red +100 ↔ 0 ↔ -80 green)

b: Degree of yellowness (yellow +70 ↔ 0 ↔ -80 blue)

쌀·포도 발효주를 각각 420 nm, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 hue는 420 nm/520 nm의 비율로, intensity는 420 nm+520 nm의 값으로 하였다(15).

관능검사

쌀·포도 발효주의 관능검사는 색, 맛, 향 및 종합적인 기호도에 대하여 식품공학과 학생 25명을 대상으로 음주 경험이 있고 차이 식별 능력이 있는, 남녀 비가 1:1의 27-30세 연령대의 panel 10명을 선정하였다. 최고 5점, 최저 1점으로 5단계 기호도 척도법으로 실행하였다(16). 이때 관능평점은 5 대단히 좋다(very good), 4 약간 좋다(good), 3 보통이다(fair), 2 약간 나쁘다(poor), 1 아주 나쁘다(very poor)로 하였다. 모든 데이터는 SAS를 이용한 Duncan의 다중비교 분석법으로 유의성을 검증하였다(17).

결과 및 고찰

쌀·포도 혼합 발효주의 발효기간 중 갈변특성

쌀·포도 혼합 발효주의 발효과정 중의 갈변의 정도를 알아보기 위해 420 nm에서의 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같았다. 쌀·포도 혼합 발효주는 탁주와 포도주의 혼합 발효 형태로서, 탁주와 포도주 각각의 발효과정 중에 일어나는 갈변현상에 대해서도 알아보아 혼합 발효로 인해 갈변에 미치는 영향을 보고자 쌀·포도주 혼합 발효주뿐만 아니라 포도주와 탁주를 개별적으

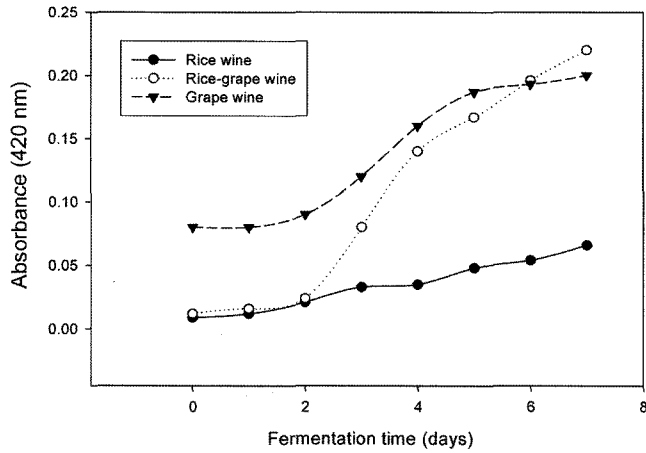


Fig. 1. Changes in absorbance at 420 nm of rice-grape wine, rice wine and grape wine during fermentation.

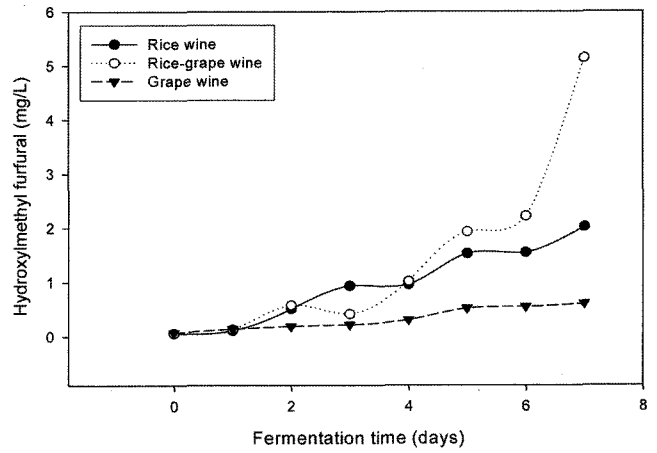


Fig. 3. Changes in hydroxymethylfurfural of rice-grape wine, rice wine, and grape wine during fermentation.

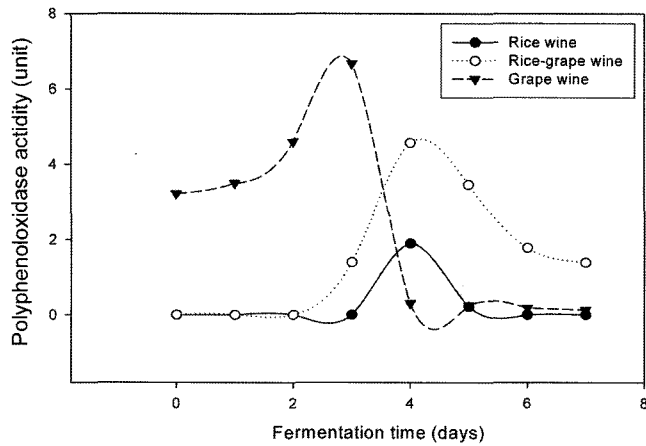


Fig. 2. Changes in polyphenoloxidase activity of rice-grape wine, rice wine and grape wine during fermentation.

로 발효시키면서 갈변도의 변화를 나타내었다. 각 시험구의 담금 시점 흡광도는 탁주가 0.009, 쌀·포도 혼합 발효주가 0.012 및 포도주가 0.08로 각기 차이를 보였는데 이는 각 시험구의 본래 색의 진한 정도에 의한 차이로 인한 것으로 생각할 수 있다. 발효가 진행되면서 탁주의 경우 담금 시작일에 0.021이었다가 담금 3일째 0.033, 4일째 0.035, 발효 종료시 0.066으로 완만하게 증가하였으며, 포도주의 경우 담금 2일부터 5일째까지 0.09-0.19로 급격히 상승하다 발효 종료 시까지 0.22로 완만히 증가하는 것을 볼 수 있었다. 한편 효소적인 갈변반응의 정도를 알아보기 위하여 polyphenoloxidase activity를 측정하여 보았는데 Fig. 2에 나타내었다. Polyphenoloxidase는 주로 o-diphenol인 catechol 또는 그 유도체 등이 공기 중의 산소 존재 하에 quinone 또는 그 유도체로 산화하는 반응을 촉매하여 주며 이 quinone 또는 그 유도체들은 반응성이 매우 강하기 때문에 계속 중합 또는 축합되어 흑갈색의 melanin 색소를 형성하게 되는 것이다(18). 그러므로 PPO 활성은 효소적 갈변 반응의 지표로서 효소활성의 감소는 갈변반응이 적게 일어남을 시사하며 갈변반응을 억제하기 위한 연구로서 pH와 온도 변화에 의한 PPO 활성억제(19-21), 갈변화의 최종 단계에서 반응하는 아미노산, 단백질 및 페놀화합물 등의 제거(22-23), 및 PPO의 활성을 불활성화 시키는 첨가제에 관한 보고(23)등의 연구 보고가 있다. Fig. 2에서 보듯이 탁주에서는 발효

3일 동안 PPO 활성을 나타내지 않다가 발효 4일째 1.90 unit, 발효 5일째 0.22 unit로 떨어져 초기에 약간 증가하였다가 발효 종료까지 PPO 활성이 감소하는 경향을 보였다. 청주의 갈변(24)에 대한 연구 결과, 청주의 갈변은 당과 아미노산에 의한 갈변반응인 비효소적인 갈변 현상이 우세하다는 보고가 있는 것과 일치하는 것으로 탁주에서 PPO의 활성이 낮은 것은 효소적인 갈변 현상이 적음을 보여주는 결과로 탁주의 갈변현상에서 비효소적인 갈변이 주로 일어난다는 것이라는 짐작을 할 수 있었다. 반면 포도주에서는 발효 초기부터 3.50 unit와 4.60 unit의 높은 PPO 활성을 나타내었으며, 발효 3일째에는 6.67 unit까지 증가했다가 발효 종료시 0.13 unit까지 감소하였다. 한편 쌀·포도 혼합 발효주는 포도를 넣기 전인 2일째까지는 효소활성이 나타나지 않다가 포도를 첨가 한 후 1.40 unit로 증가해 4일째 4.57 unit까지 증가하였으며 이는 포도의 PPO 활성 증가에 따른 것으로 보인다. 담금 5일째부터는 점차 감소하여 0.02 unit까지 떨어졌음을 알 수 있었다. 쌀·포도 혼합 발효주의 경우 포도주와 탁주의 효소활성 변화로 미루어 보아 탁주의 PPO 활성 보다는 포도주의 PPO 활성 변화에 따라 쌀·포도주 혼합 발효주의 PPO 활성에 영향을 받는 것으로 추정되며 이것으로 발효 중에 포도에 의한 효소적인 갈변이 진행됨을 알 수 있었다. 효소와 관련되지 않은 비효소적 갈변반응은 Maillard 반응과 caramel 반응이 있다. 이 두 가지 반응에서 일어나는 중간 단계에서 매우 반응성이 큰 중간물질인 HMF가 생성되는데 저장온도가 높고 시간이 길수록 HMF의 생성량은 많아지기 때문에 HMF의 측정으로 식품의 품질상태, 갈변정도를 알 수 있다(13). PPO 활성과 마찬가지로 포도주, 탁주, 쌀·포도 혼합 발효주의 발효과정 중 HMF의 함량을 비교하여 발효 과정 중의 비효소적 갈변 반응의 정도를 알아보려 하였다.

Fig. 3에서 보듯이 HMF 생성량은 탁주에서는 처음 0.06 mg/L에서 발효 종료시까지 2.02 mg/L로 조금씩 증가된 것을 볼 수 있었다. 청주의 갈변에 대한 연구 결과(24)와 일치하는 것으로 청주의 갈변에 관계하는 인자를 Maillard 반응, caramel화 반응, 그 외 포도당 이외의 청주 성분의 반응으로 구별하고 순서대로 그 영향이 크다고 보고하였다. 또 당과 아미노화합물의 상호작용에 의한 중간체인 HMF를 측정함으로써 갈변정도를 알 수 있다고 보고하고 있다(24). 한편 포도주의 경우 발효 종료 시 HMF 생성량이 0.61 mg/L로 비교적 낮은 값을 나타내는데 포도주에서도 비효소적인 갈변이 진행되고 있지만 효소적인 갈변에 비해 상대적으로 적은 값을 나타내 포도주에서는 PPO에 의한 효소적인 갈

Table 1. Effect of browning inhibitors on degree of browning during storage of rice-grape wine at 12°C

Browning inhibitor	Concentration (%)	Storage period (days)		
		10	20	30
Bentonite	0.3	14.63 ¹⁾	25.71	7.91
	0.5	32.20	48.57	30.23
	0.7	56.59	65.71	51.16
PVPP ²⁾	0.1	18.05	11.43	2.33
	0.2	21.95	14.29	6.98
	0.3	27.32	25.71	7.44
K ₂ S ₂ O ₅ ³⁾	0.005	13.17	2.86	6.98
	0.01	68.78	97.71	97.19
	0.02	70.73	81.43	70.23

¹⁾Degree of browning inhibition: $(\Delta A_{420,control} - \Delta A_{420,treatment}) \times 100 / \Delta A_{420,control}$
²⁾PVPP: polyvinylpolypyrrolidone.
³⁾K₂S₂O₅: potassium metabisulfite.

변이 주로 일어남을 시사하였다. 쌀·포도 혼합 발효주에서는 초기 0.06 mg/L에서 발효가 진행됨에 따라서 점점 증가하여 담금 2 일째에 0.58 mg/L로 증가하다 담금 2일째 포도 첨가 후 희석되어 0.42 mg/L로 감소하였다가 발효 종료 시점에 5.14 mg/L로 가장 많은 양이 생성되었다. 즉 쌀·포도 혼합 발효주, 탁주, 포도주의 발효과정 중 HMF 생성량을 비교해 본 결과 쌀·포도 혼합 발효주에서 가장 높은 생성량을 보여 쌀·포도 혼합 발효주의 갈변현상이 비효소적인 갈변 반응에 의한 영향이 크다는 것을 추정할 수 있었다.

갈변 저해제에 따른 갈변 저해도

쌀·포도 혼합 발효주에 갈변 저해제로 상업적으로 과실음료, 농축액, 주류 산업 등에서 산화방지를 목적으로 손쉽게 이용되고 있는 bentonite(25,26), polyvinylpolypyrrolidone(8,27,25), potassium metabisulfite(9,26)를 선정하여 갈변저해도를 측정된 결과를 Table 1에 나타내었다. 갈변 저해도(degree of browning inhibition)는 그

값이 높을 수록 갈변 저해 효과가 우수하다는 것을 의미한다.

Bentonite는 과즙, 과피, 종자 및 효모에서 유래한 포도주의 단백질 제거에 이용되는 것으로 적포도주 보다는 주로 백포도주의 단백질 침전으로 인한 상품가치 저하를 막기 위해 사용된다(25). Bentonite 처리 시험구의 경우 30일의 저장기간 동안 0.5%와 0.7% 구간에서 30.23-51.16의 높은 갈변 저해도를 보여주어 갈변 저해에 효과가 있음을 확인할 수 있었다. Polyvinylpolypyrrolidone 처리 시험구는 저장 초기 10일까지는 18.05-27.32의 갈변저해 효과를 보여주나 저장기간이 길어질수록 2.33-7.44로 떨어지는 현상을 보여주었다. Polyvinylpolypyrrolidone은 단백질과 비슷한 결합의 폴리페놀 수지로 폴리페놀과 polyvinylpolypyrrolidone이 수소결합을 해 효과적으로 제거시키고 백포도주의 갈변화를 억제하고 색상과 향미 등을 향상시키며 또한 잔유량의 제거가 쉽고 다른 청징제와 잘 혼합하여 그 효과를 촉진시키는 이점 등이 있어 양질의 백포도주를 생산하는데 이용되고 있다(8,28). Potassium metabisulfite(K₂S₂O₅)를 처리한 시험구에서는 50 ppm을 처리한 시험구에서만 낮은 효과를 보였으며 0.01%와 0.02%를 처리한 시험구에서 갈변 저해도는 30일 경과 후 70.23-97.19의 가장 우수한 효과를 보였다. 그러나 potassium metabisulfite의 농도가 지나치게 높을 경우 오히려 와인의 색을 탈색시킨다는 Gomez의 보고(9)처럼 0.02%를 처리한 시험구에서는 오히려 탈색이 되어 0.01%를 처리한 시험구보다 낮은 수치를 보여주고 있다.

선별된 갈변 억제제를 처리한 쌀·포도 혼합 발효주의 숙성 중 갈변 특성

갈변 저해제를 첨가한 쌀·포도 혼합 발효주의 저장기간에 따른 pH 변화를 Table 2에 나타내었다. 저장기간이 경과됨에 따라 10일 동안은 약간 증가하였다가 그 후 모든 시험구에서 약간 감소하는 경향을 나타내었으나 전반적으로 큰 차이는 보이지 않았다. 효소적인 갈변의 주요 원인인 polyphenoloxidase의 최적 pH는 5.8-6.8 이며 pH 3.0 이하에서는 그 활성이 현저히 감소하고 비효소적인 갈변에서는 pH가 높을수록 갈변이 촉진된다(18). 이 점을 참고하여 불 때 모든 시험구의 pH 3.63-3.74로 비교적 낮은 pH 범위를 가져 갈변을 일으킬 수 있는 pH 범위에서 벗어나 있

Table 2. Changes in pH, total phenolics, amino acidity, and HMF of rice-grape wine treated with browning inhibitors during storage

Characteristics	Browning inhibitor	Storage period (days)				
		0	10	20	30	60
pH	Control	3.55	3.73	3.70	3.71	3.65
	Bentonite	3.55	3.73	3.74	3.72	3.69
	PVPP	3.55	3.69	3.69	3.69	3.63
	K ₂ S ₂ O ₅	3.55	3.70	3.70	3.72	3.63
Total phenolics (mg/L)	Control	728.80	711.86	645.59	581.64	591.99
	Bentonite	728.80	640.50	616.24	590.93	628.51
	PVPP	728.80	571.79	567.12	548.29	577.95
	K ₂ S ₂ O ₅	728.80	735.60	714.24	716.87	655.04
Amino acidity (mg%)	Control	22.54	22.54	21.40	19.49	17.25
	Bentonite	22.54	19.27	19.29	18.01	16.09
	PVPP	22.54	20.42	19.55	17.37	18.17
	K ₂ S ₂ O ₅	22.54	20.63	20.03	18.66	18.07
HMF (mg/L)	Control	5.41	68.96	78.09	78.64	81.24
	Bentonite	5.41	41.77	42.56	48.70	48.65
	PVPP	5.41	63.12	63.27	64.72	65.82
	K ₂ S ₂ O ₅	5.41	48.50	41.67	51.25	49.75

Table 3. Effect of browning inhibitors on color of rice-grape wine during storage

Browning inhibitor	Color ¹⁾	Storage period (days)			
		10	20	30	60
Control	L	50.42 ± 0.06 ²⁾	45.74 ± 0.29	39.72 ± 0.36	34.59 ± 0.07
	a	55.09 ± 0.08	46.41 ± 0.08	38.88 ± 0.05	35.51 ± 0.07
	b	56.74 ± 0.04	46.87 ± 0.37	42.04 ± 0.13	40.46 ± 0.51
Bentonite	L	45.95 ± 0.08	48.35 ± 0.03	45.65 ± 0.06	43.13 ± 0.52
	a	56.57 ± 0.12	55.11 ± 0.27	44.29 ± 0.05	43.94 ± 0.40
	b	30.57 ± 0.06	28.35 ± 0.04	19.33 ± 0.44	20.81 ± 0.34
PVPP	L	56.64 ± 0.16	59.21 ± 0.12	56.58 ± 0.07	56.13 ± 0.56
	a	38.98 ± 0.19	33.81 ± 0.16	30.17 ± 0.12	31.66 ± 0.49
	b	60.57 ± 0.08	52.71 ± 0.47	45.76 ± 0.07	43.90 ± 0.47
K ₂ S ₂ O ₅	L	61.18 ± 0.04	57.54 ± 0.10	58.18 ± 0.09	58.14 ± 0.51
	a	48.75 ± 0.05	41.81 ± 0.15	49.47 ± 0.04	47.49 ± 0.51
	b	16.21 ± 0.04	10.77 ± 0.01	12.67 ± 0.02	13.21 ± 0.14

¹⁾Color L, black (0) ↔ white (100); a, red (100-0) ↔ green (0- -80); b, yellow (70-0) ↔ blue (0- -70).

²⁾Values represent the mean ± SD of three replications.

Initial L, a, and b values were 44.25 ± 0.05, 16.42 ± 0.06, and 8.12 ± 0.02, respectively.

다는 것을 알 수 있었다.

포도주는 발효 중 에탄올 생성과 함께 flavan-3-ols, flavan-3,4-diols, anthocyanin, anthocyanidin, flavonol 등과 같은 포도껍질의 페놀성분이 에탄올에 용출되어 포도주 안으로 침출되면서 발효 초기 동안은 증가하는 경향을 보이다가 숙성을 거치면서 이들 성분이 서로 중합하여 고분자의 페놀성분을 생성하게 된다. 따라서 저장기간이 길어지면서 탄닌과 안토시아닌의 중합체 형성으로 인해서 총 페놀 함량은 점점 줄어들게 되는 것이다(29). Table 2에서 보듯이 본 실험에서도 대조구와 시험구 모두에서 전체적으로 시간이 경과 할수록 총 페놀 함량이 감소하였다. 대조구의 경우 저장 기간에 따라 저장 10일째 711.86 mg/L을 나타내다 저장 20일째 645.59 mg/L, 저장 30일째 581.63 mg/L, 저장 60일째 591.99 mg/L로 감소하였다. 이는 탄닌과 안토시아닌의 중합체 형성으로 인한 이유도 있지만 저장 기간이 지날수록 갈변이 심하게 일어난 결과로 보아 polyphenoloxidase에 의한 산화로 기질인 polyphenol이 감소된 이유도 있을 것이라고 추정된다. Bentonite를 처리한 시험구는 시간이 경과할수록 저장 10일째 646 mg/L, 저장 20일째 616.24 mg/L, 저장 30일 및 60일째 590.93 mg/L 및 628 mg/L로 점차 감소하였지만 대조구 보다는 많은 페놀함량을 가지는 것을 볼 수 있었다. PVPP를 처리한 시험구에서는 초기 총 페놀 함량이 571.79 mg/L로 대조구와 다른 처리구들에 비해 적은 값으로, 페놀화합물들이 효과적으로 제거되었다는 것을 알 수 있었다. 김 등(26)의 연구에서는 사과농축액에 PVPP를 첨가해 폴리페놀화합물들을 효과적으로 제거하여 polyphenoloxidase 효소의 기질을 제거하는 방법으로 효소적인 갈변을 억제시킬 수 있었음을 확인할 수 있었던 것과 같은 결과이다. Potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서는 저장 초기 가장 높은 734.6 mg/L를 함유하고 있는데 이것은 대조구보다도 많은 양으로 초기 갈변반응이 심했던 대조구에서는 폴리페놀 화합물들이 갈변반응의 기질로 이용되어 감소하였지만 potassium metabisulfite를 처리한 시험구의 갈변 저해율이 68.78%인 점을 고려해 보았을 때 갈변현상이 일어나지 않았기 때문으로 보인다. 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량은 저장 20일째 714.24 mg/L, 저장 30일째 716.87 mg/L, 저장 60일째 655.04 mg/L을 나타내었다.

아미노산도 변화에서는 전체적으로 시간이 경과함에 따라서 아

미노산도가 감소함을 알 수 있었는데 이는 Maillard 반응에 의하여 형성되는 갈색색소의 양이 환원당의 농도에 비례하고 유리 amino기를 가진 질소화합물의 농도와 경과시간의 제곱에 각각 비례한다는 보고(18)와 일치하는 것으로 쌀·포도 혼합 발효주 역시 Maillard 반응으로 인해 아미노산이 소진되었기 때문인 것으로 판단된다. Bentonite 처리 시험구의 경우 저장 10일이 지난 후 아미노산 함량이 19.27 mg%로 다른 시험구가 20.42-22.54 mg%인 것에 비해 많이 감소한 것을 볼 수 있는데 이것은 bentonite 처리로 아미노산이 효과적으로 제거되었기 때문이다. PVPP를 처리한 시험구에서도 마찬가지로 저장 10일째 20.42 mg%, 저장 20일째 19.55 mg%, 저장 30일째 17.37 mg% 및 저장 60일째 18.17 mg%로 시간이 지남에 따라 갈변 기질로서 소모되어 점점 감소하는 경향을 나타내었다. Potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서도 저장 시간에 따라 10일째 20.63 mg%, 20일째 20.03 mg%, 30일째 18.66 mg% 및 60일째 18.07 mg%로 점점 감소하였으며 PVPP를 처리한 시험구와 유사한 값을 보였다.

비효소적인 갈변 반응에서 일어나는 중간 단계에서 생성되는 hydroxymethylfurfural(HMF)는 저장온도가 높고 시간이 길수록 그 생성량은 많아지기 때문에 HMF의 측정으로 식품의 품질상태, 갈변 정도를 알 수 있다. 갈변 저해제를 처리한 쌀·포도 발효주의 저장기간에 따른 HMF의 함량변화를 Table 3에 나타내었다. HMF가 Maillard 반응 및 caramel 반응 등으로 인한 melanoidin 형성 중 생성되는 반응 중간 물질임을 생각할 때 저장기간이 경과함에 따라 쌀·포도 발효주에서 비효소적인 갈변반응이 일어났음을 추정할 수 있었다. 발효 종료 후 압착한 쌀·포도 발효주의 경우 HMF의 함량이 5.14 mg/L이었지만 저장 10일 만에 아무것도 처리하지 않은 대조구의 경우 68.96 mg/L로 급격히 증가한 후 60일 동안 78.09 mg/L, 78.64 mg/L 및 81.24 mg/L로 증가하는 것을 보았을 때 비효소적인 갈변이 저장 초기에 급격히 일어나는 것을 알 수 있었다. 한편 bentonite를 처리한 시험구에서는 저장 10일 동안 대조구보다 적은 양인 41.77 mg/L이 생성되었고 저장 기간에 증가함에 따라 약간씩 증가하여 60일이 지난 후에는 48.65 mg/L에 이르러 대조구와 마찬가지로 초기 갈변현상은 급격히 일어나지만, 10일이 지난 후부터는 HMF의 양이 소폭으로 증가하였으며, 다른 시험구들에 비해 적은 양의 HMF가 생성된 것으로

보아 비효소적인 갈변반응을 억제하는데 효과가 있었음을 알 수 있다. PVPP를 처리한 시험구는 시간이 경과함에 따라 HMF 생성량은 10일째 63.12 mg/L, 20일째 63.27 mg/L, 30일째 64.72 mg/L 및 60일째 65.82 mg/L로 대조구보다 낮은 HMF 생성량을 보여 주긴 하지만 다른 시험구들에 비해서 비교적 많은 생성량을 보여 주는 것으로 보아 PVPP로 인한 갈변 저해 작용이 비효소적인 갈변반응에서는 효과가 약함을 알 수 있었다. 이는 Bac(30) 등이 사과농축액의 갈변방지를 위해서 PVPP를 첨가한 결과 HMF의 생성량이 대조구와 비교해 차이가 없어 비효소적인 갈변방지에 효과가 없었다는 보고와 일치하였다. Potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서는 저장기간이 경과함에 따라 HMF가 48.5 mg/L, 49.75 mg/L 생성되어 bentonite와 유사한 결과를 보여 갈변 억제에 효과가 있음을 확인할 수 있었다. K₂S₂O₅ 같은 아황산염들은 quinone과 부가화합물을 형성하여 산화가 더 이상 진행되는 것을 억제해 효소적 갈변현상을 효과적으로 억제한다고 알려져 있기도 하지만 Maillard 반응의 초기단계에서 carbonyl 화합물들이 amino 화합물들과 결합하는 것을 방해해(18) 비효소적인 갈변 현상 억제에도 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

쌀 · 포도 혼합 발효주의 색도

포도주 평가 시 중요한 항목 중의 하나인 색도는 품질을 평가 해 주는 요소이기도 하지만, 양조과정 중의 색도변화는 발효과정, 혹은 숙성정도를 예측할 수 있는 지표가 되기도 한다(31). Table 3에 갈변저해 처리가 된 쌀 · 포도 혼합 발효주의 저장 기간동안의 L, a, b value의 변화를 나타내었다. 본 연구에서 쌀 · 포도 혼합 발효주의 발효 종료 후 L, a, b value는 각각 44.25±0.05, 16.42±0.06, 8.12±0.02로, 발효초기 불투명한 붉은 빛을 띠다가 발효와 숙성을 거치면서 점점 투명하고 짙은 붉은 색을 띄었다. 각 갈변저해 처리를 한 후 10일 동안 L value는 모든 시험구에서 초기값 보다 증가한 값을 나타내었다. 이런 밝기의 증가는 탁도의 지표가 되는 부유 단백질과 폴리페놀화합물 제거에 bentonite, PVPP 처리가 효과가 있다는 Siebert 및 Lynn(23)과 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 어떤 처리도 하지 않은 대조구에서 60일 저장기간 동안 L value가 50.42±0.06-34.59±0.07으로 감소하여 갈색반응으로 인해서 색이 많이 어두워지고 탁해짐을 알 수 있었다. 한편 bentonite와 PVPP를 처리한 시험구에서는 저장 10일 후와 60일 후의 L value에서 그다지 큰 변화를 보이지 않으며, potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서는 저장 10일 만에 다른 시험구들에 비해 L value가 상당히 높아졌는데 이는 potassium metabisulfite 의한 탈색효과로 인한 것으로 보인다. 저장 60일이 경과한 후 potassium metabisulfite를 처리한 시험구의 L value는 58.14±0.51로 가장 밝은색을 띄는 것을 확인할 수 있었다.

a value는 저장시간이 경과함에 따라서 모든 시험구에서 감소하는 경향을 보였다. potassium metabisulfite를 처리한 시험구를 제외하고는 모두 a value가 감소하는 양상을 보였으며, 특히 PVPP를 처리한 시험구는 저장 10일만에 38.98±0.19로 많이 감소하였는데 PVPP를 처리한 시험구는 가장 적은 페놀함량을 보인 시험구로, 이는 적포도주의 색소가 총 페놀 함량의 변화와 SO₂ 첨가량, 여과, 또는 malolactic fermentation에 의해 손실될 수 있다는 보고(31)와, Heredia 등이 pH가 1.5-4 범위 내에서 증가할수록 안토시아닌의 색도가 손실된다고 보고(32)한 것과 일치하였다. Potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서는 저장 10일 만에 다른 시험구들에 비해 a value가 약간 증가한 경향을 보였는데 탈색효과로 인해 상대적으로 a value가 증가한 것으로 생각된다. 저장 60일 경과 후 potassium metabisulfite를 처리한 시험구의 a

Table 4. Changes in hue and intensity of rice-grape wine treated with brownings inhibitor during storage

Characteristics	Browning inhibitor	Storage period (days)				
		0	10	20	30	60
Intensity	Control	0.47	1.48	1.86	2.09	2.11
	Bentonite	0.47	0.97	0.97	1.07	0.98
	PVPP	0.47	1.50	2.05	2.60	2.76
	K ₂ S ₂ O ₅	0.47	0.78	0.87	0.85	0.88
Hue	Control	0.69	1.08	1.08	0.98	1.01
	Bentonite	0.69	0.53	0.48	0.67	0.67
	PVPP	0.69	0.75	0.77	0.82	0.85
	K ₂ S ₂ O ₅	0.69	0.42	0.34	0.58	0.61

value가 47.49±0.51로 가장 붉은 색을 띄었으며, bentonite 처리 시험구가 43.94±0.40, 대조구가 35.51±0.07, PVPP를 처리한 시험구가 31.66±0.49로 가장 낮은 값을 나타냈다.

b value 역시 저장기간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 초기 갈변이 심해 발효 종료 시점의 쌀 · 포도 혼합 발효주의 b value가 8.12±0.02인 것에 비해 저장 10일 동안의 b value는 상당히 증가한 값을 볼 수 있었다. 그러나 숙성을 거치면서 포도주의 b value는 감소한다는 결과(4)와 마찬가지로 점점 감소하였다.

쌀 · 포도 혼합 발효주의 Hue, Intensity

A₄₂₀(absorbance at 420 nm)과 A₅₂₀(absorbance at 520 nm)의 합은 포도주의 적색의 intensity를 나타내주는 값으로 갈변이 진행될수록 증가하는 경향을 보이며, 1이상의 값을 나타내면 적포도주로 적합하지 않다고 알려져 있다(4).

Intensity의 결과는 Table 4와 같이 대조구의 경우 저장 10일째 1.08, 저장 20일째 1.08, 저장 30일째 0.98 및 저장 60일째 1.01로 대부분이 1.0을 넘어 갈변이 진행된 상태로 적포도주로서 적합하지 않은 색을 가지고 있다는 것을 알 수 있다. 한편 대조구의 값은 점점 감소하는데 이것은 포도주의 경우 갈변이 진행될수록 증가하는 경향을 보인다고 보고한 것과 대조구의 intensity 값이 감소하는 차이를 보이는데 이는 본 연구에서 갈변이 진행될수록 A₄₂₀ 값의 증가량에 비해, A₅₂₀의 값의 감소량이 크므로 그 합이 유사한 값 또는 적은 값을 보이기 때문인 것으로 생각된다. Bentonite, PVPP, potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서는 저장기간이 길어질수록 A₄₂₀+A₅₂₀의 값은 증가하는 경향을 보이나, 모두 각각의 최고치가 0.67, 0.82 및 0.61로서 1.0보다는 작은 값을 나타내 적포도주로서 적합하다는 것을 알 수 있었다.

Hue의 결과는 Table 4와 같이 나타났다. A₄₂₀/A₅₂₀는 포도주의 hue를 나타내주는 것으로 이 비(比)는 포도주의 갈변정도나 포도주의 광택, 윤기와 관계가 있다고 알려져 있다(25). 미숙 적포도주에서 0.5 부근이며, 과도하게 산화된 경우 1.0 이상이 된다고 보고되었다(31). 대조구와 PVPP를 처리한 시험구에서는 모두 1.0 이상으로 적포도주로서 부적합하다는 것을 알 수 있었다. Bentonite와 potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서는 저장 기간에 따라서 각각 저장 60일 동안 0.97, 0.97, 1.07, 0.98과 0.78, 0.87, 0.85 및 0.88로 1.0 이하의 값으로 적포도주로서 적합하다는 결론을 얻을 수 있었다. 비교적 potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서 낮은 Hue 값을 나타내는데 높은 총 페놀 함량을 가질수록 hue 값이 낮아진다는 이 (4)등이 보고한 결과와 일치하는 것을 알 수 있었다.

각 시험구들의 색에 대해 육안으로 관찰해 보고자 60일 동안

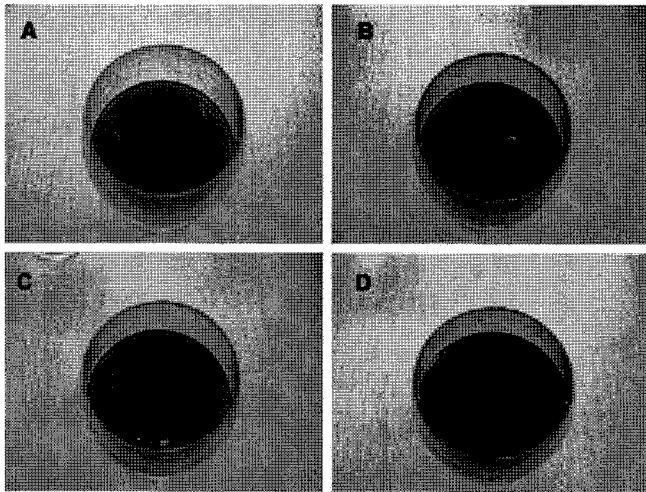


Fig. 4. Photographs of rice-grape wine treated with browning inhibitors after 60 days at 12°C. A: control, B: bentonite, C: PVPP, D: potassium metabisulfite.

저장한 시험구들의 사진을 찍어 Fig. 4에 나타내었다. L, a, b value 측정 결과 갈변이 많이 진행된 것으로 나타난 대조구와 PVPP를 처리한 시험구에서는 육안으로도 갈변의 정도를 쉽게 관찰할 수 있었다. 각 시험구들의 적색의 정도 역시 a value의 결과에서 보였던 것처럼 potassium metabisulfite 처리 시험구, bentonite 처리 시험구, 대조구, PVPP 처리 시험구의 순서로 붉은색이 진하게 나타남을 확인할 수 있었다.

관능검사

쌀·포도 발효주의 관능검사 결과는 Table 5에 나타내었다. 쌀·포도 혼합 발효주의 맛에 관한 관능 평가 결과는 potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서 가장 높은 4.2를 나타내었으며 나머지 시험구들에서는 2.3, 2.9 및 2.1로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 앞에서 본 결과들과 같이 갈변이 심하게 일어난 대조구와 PVPP를 처리한 시험구가 맛에서 낮은 점수를 얻은 것은 갈변으로 인한 이미에 의한 결과로 판단된다. 한편 향에 대한 관능 평가 결과에서도 potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서 가장 높은 점수인 4.5를 얻었으며 bentonite를 처리한 시험구가 3.3이었고 대조구와 PVPP를 처리한 시험구가 각각 1.9, 2.0으로 가장 낮은 점수를 얻었다. 또 색에 대한 관능 평가 결과는 potassium metabisulfite를 처리한 시험구가 4.8로 역시 가장 높았으며 bentonite 처리 시험구가 3.0, 대조구가 1.7, PVPP 처리 시험구가 1.5로 색, 향의 결과와 유사한 결과를 보였다. 전체적인 기호도에 대한 관능 평가 결과에서는 potassium metabisulfite를 처리한 시험구에서 4.3, bentonite를 처리한 시험구에서 3.3, 대조구가 2.2, PVPP를 처리한 시험구가 1.6을 얻어 potassium metabisulfite를 처리한 시험구가 가장 높은 선호도를 나타냈으며, 대조구와 PVPP를 처리한 시험구는 유의적으로 차이를 보이지 않았다. 포도주에서 페놀함량은 포도주의 색, 향, 맛 등 관능적 특성면에서도 중요하게 다루어진다고 알려져 있는데(33) 본 연구에도 페놀 함량이 가장 적었던 PVPP 처리 시험구가 색, 맛, 전체적인 기호도에서 가장 낮은 값을 나타내 갈변이 진행된 쌀·포도 혼합 발효주는 관능적으로 나쁘다는 것을 알 수 있었고, 페놀 함량이 많고, 갈변이 가장 적게 진행된 potassium metabisulfite를 처리한 시험구가 색, 맛, 향, 전체적인 기호도 모두에서 가장 높은 점수를 얻어 관능적으로 가장 우수하다는 것을 알 수 있었다.

Table 5. Sensory evaluation of rice-grape wine treated with browning inhibitors

Browning inhibitor	Sensory characteristics			
	Taste	Flavor	Color	Overall preference ¹⁾
Control	2.3 ^{b2)}	1.9 ^c	1.7 ^c	2.2 ^c
Bentonite	2.9 ^b	3.3 ^b	3.0 ^b	3.3 ^b
PVPP	2.1 ^b	2.0 ^c	1.5 ^c	1.6 ^c
K ₂ S ₂ O ₅	4.2 ^a	4.5 ^a	4.8 ^a	4.3 ^a

¹⁾Each values represent the mean of the ratings by 10 judges using a 5-point scale (1: very poor, 3: fair, 5: very good).

²⁾Values followed by the same letter are not significantly different at $p < 0.01$ level by Duncan's multiple range test.

요 약

쌀을 혼합해 발효시킨 포도주에 다양한 갈변저해 첨가제를 사용하여 숙성 기간 동안 품질의 변화와 갈변의 억제 정도를 관찰하고 저장성을 증대시켜 새로운 개념의 쌀을 혼합, 발효시킨 포도주의 개발을 모색하고자 하였다. 쌀·포도 혼합 발효주의 발효과정 중의 갈변도를 알아본 결과 포도주, 탁주, 쌀·포도 혼합 발효주 중 쌀·포도 혼합 발효주의 갈변도의 변화가 가장 컸으며, 발효 중 polyphenoloxidase activity와 hydroxymethyl furfural의 함량 변화를 측정해본 결과 효소적 갈변과 비효소적인 갈변이 동시에 진행되었고 효소적인 갈변반응보다는 비효소적인 갈변반응이 쌀·포도 혼합 발효주에서 우세함을 알 수 있었다. 갈변저해 첨가제 처리에 따른 갈변 기질의 변화를 살펴 본 결과 pH의 변화는 거의 없었으며, 총 페놀 함량, 아미노산 함량은 시간이 지남에 따라 갈변반응으로 인해 소진되어 감소하는 경향을 보였다. 저장 중 색의 변화를 살펴보기 위하여, 색도, Hue, intensity 값을 측정하고 관능검사를 실시하였다. A₄₂₀(absorbance at 420 nm)와 A₅₂₀(absorbance at 520 nm)의 합을 나타내는 intensity는 그 값이 대조구와 PVPP 처리 시험구에서는 1.0이 넘어 적포도주로서는 부적합하였다. 또 A₄₂₀/A₅₂₀는 포도주의 Hue를 나타내주는 것으로 역시 대조구와 PVPP 처리 시험구에서 1.0이 넘는 값을 나타내 적포도주로서 부적합함을 알 수 있었다. L, a, b value는 저장기간이 증가함에 따라서 점차 감소하였다. 쌀·포도 발효주의 관능검사 결과 대조구와 polyvinylpyrrolidone를 처리한 시험구에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으며, potassium metabisulfite를 처리한 시험구가 맛, 향, 색 및 전체적인 선호도에서 가장 높은 점수를 얻었다.

문 헌

- Joseph R. Good Wine Guide 2001. Dorling Kindersley Publishing Inc., New York, NY, USA. p. 23 (2000)
- Sastre I, Vicente MA, Lobo CM. Influence of the application of sewage sludge on soil microbial activity. Bioresour. Technol. 57: 9-23 (1996)
- Amerine MA, Cruess WV. The Technology of Wine Making. AVI Publishing, CT, USA. pp. 303-329 (1960)
- Koh KH, Lee JE. A study on the sensory characteristics of Korean red wine. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 841-848 (2003)
- Bae SD, Bae SM, Kim JS. Fermentation characteristics of rice-grape wine fermented with rice and grape. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 616-623 (2004)
- Han SI. Manufacturing technology of liquor of mountain berry.

- Korea Patent S2003-0028513 (2003)
7. Amerine MA, Berg HW, Kunkee RE, Ough CS, Singleton VL, AD Webb. The Technology of Wine Making. 4th ed. AVI, Westport, USA. p. 381 (1979)
 8. Song DH, Kim CJ. Phenolics content and browning capacity during the white winemaking. Korean J. Food Sci. Technol. 20: 787-793 (1988)
 9. E Gomez, A Martinez. Prevention of oxidative browning during wine storage. Food Res. Int. 28: 213-217 (1995)
 10. Piggott JR. Sensory analysis of food. Elsevier Applied Science Publishers, London, UK. pp. 141-161 (1984)
 11. Shin HS. Food Analysis (theory and experiment). Shingwang Pub. Co., Seoul, Korea. p. 171 (1989)
 12. Archer MC, Palmer JK. An Experiment in Enzyme Characterization. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp. 50-52 (1975)
 13. Kang KH, Noh BS, Seo JH, Hawer WD. Food Analysis. Sungkyunkwan University Press, Seoul, Korea. pp. 405-406 (1998)
 14. Kim GH. Studies on quality maintenance of fresh fruit and vegetables using modified atmosphere packaging. Korean J. Postharvest. Sci. Tech. 5: 23-28 (1998)
 15. Auw JM, Blanco V, O'keefe FO, Sims CA. Effect of processing on the phenolics and color of cabernet sauvignon, chambourcin, and noble wines and juices. Am. J. Enol. Viticult 47: 279-286 (1996)
 16. Kim KO, Kim SS, Sung NK, Lee YC. Sensory Evaluation Method and Application. Shingwang Pub. Co., Seoul, Korea. (1993)
 17. Choi HJ, Lee CW. Statistical Analysis using SAS Program. Parkyung Pub. Co., Seoul, Korea. pp. 103-121(1998)
 18. Chae SK, Kim SH. Food Chemistry. Hyoil Pub. Co., Seoul, Korea. pp. 384-411 (2001)
 19. Zemel GP, Sims CA, Marshall MR, Balaban B. Low pH inactivation of polyphenoloxidase in apple juice. J. Food Sci. 55: 562-563 (1990)
 20. Yemencioğlu A, Ozkan M, Cemeroglu B. Heat inactivation kinetics of apple polyphenoloxidase and activation of its latent form. J. Food Sci. 62: 508-510 (1997)
 21. Oktay M, Kufrevioglu I, Kocacaliskan I, Sakiroglu H. Polyphenoloxidase from amasya apple. J. Food Sci. 60: 494-496 (1995)
 22. Gokmen V, Borneman Z, Nijhuis HH. Improved ultrafiltration for color reduction and stabilization of apple juice. J. Food Sci. 63: 504-507 (1998)
 23. Siebert KJ, Lynn PY. Haze-active protein and polyphenols in apple juice assessed by turbidimetry. J. Food. Sci. 62: 79-84 (1997)
 24. Oka S. Browning of rice wine. Bull. Dept. Eng. Hiroshima Univ. Japan 63: 1056-1059 (1979)
 25. Bae SM. Wine Making Pricipal. Bae Sang Myun Brewery Institute Co., Seoul, Korea (2002)
 26. Kim HW, Bae SK. The effect of antibrowning agents on enzymatic reaction in apple concentrate. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 454-458 (2002)
 27. National Tax Service Technical Service Institute. Alcoholic Beverage analysis rule. Sejung, Pub. Co., Seoul, Korea. p. 196 (1975)
 28. Mckissock A. Polyvinylpyrrolidone in wine technology. Food Tech. Newzealand 12: 62-63 (1966)
 29. Shahidi F, Naczk M. Food Phenolics. Technomic Publishing Company, Lancaster, PA, USA. pp. 128-135 (1995)
 30. Bae SK, Lee YC, Kim HW. The browning reaction and inhibition of apple concentrated juice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 6-13 (2001)
 31. Zoecklein BW, Fugelasng KC, Gump BH, Nury FS. Production Wine Analysis. Van Nostrand Reinhold, New York, USA. pp. 129-168 (1990)
 32. Heredia FJ, Francia EM, Rivas JC, Vicario IM, Santos C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes: I. pH effect. Food Chem. 63: 491-498 (1998)
 33. Ritchey JG, Waterhouse AL. A standard red wine monomeric phenolic analysis of commercial cabernet sauvignon wines. Am. J. Enol. Viticult. 50: 91-100 (1999)