

대봉감 연시를 이용한 항산화 활성이 강화된 와인 제조

주옥수¹ · 강수태² · 정창호³ · 임종우⁴ · 박영규⁴ · 조계만^{1*}

¹경남과학기술대학교 식품과학부, ²청학동 삼선당(주), ³경상대학교 식품공학과, ⁴하동군농업기술센터 농업생산유통과

Manufacturing of the Enhances Antioxidative Wine Using a Ripe Daebong Persimmon (*Dispyros kaki* L)

Ok Soo Joo¹, Su Tae Kang², Chang Ho Jeong³, Jong Woo Lim⁴, Yeong Gyu Park⁴, and Kye Man Cho^{1*}

¹Department of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Tchnology, Jinju 660-758, Republic of Korea

²Cheongak-Dong Samsundang Food Co., Hadong 667-886, Republic of Korea

³Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Republic of Korea

⁴Department of Agricultural Produce & Trade, Hadong-Gun Agricultural Technology Center, Hadong 770-701, Republic of Korea

Received April 30, 2011; Accepted May 30, 2011

In this study, the characteristics of alcohol fermentation using ripe Daebong persimmon juice were studied in static fermentation condition by *Saccharomyces cerevisiae* CS02 in an effort to develop new types of functional wine. Attempts were made to modify the ripe Daebong persimmon juice in order to find suitable conditions for alcohol fermentation. The modified ripe Daebong persimmon juice that was most suitable for alcohol fermentation contained 24°brix of sugar supplemented with sucrose as a carbon source and 0.5 g/L of (NH₄)₂HPO₄ as a nitrogen source. After 9 days of fermentation at 25°C, 12.2±0.02% of alcohol was produced from the modified juice and its pH markedly decreased to 3.97±0.02. The wine contained free sugar such as fructose (0.12±0.02 g/L), some organic acids such as malic acid (35.92±0.24 g/L), succinic acid (8.12±0.03 g/L), oxalic acid (22.14±0.11 g/L), and citric acid (13.63±0.08 g/L), as well as some flavanols and phenolic acids such as catechin gallate (38.99±0.32 mg/L), epicatechin gallate (110.21±0.16 mg/L), gallic acid (163.88±1.11 mg/L), epigallocatechin (15.97±0.18 mg/L), and tannic acid (13.36±0.02 mg/L). In addition, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical (84.25%) and ABTS^{•+} radical (99.65%) scavenging activities were increased significantly with a corresponding increased in the organic acid and phenolic acid contents, but decreased in the flavonoids.

Key words: organic acids, phenolic acids, radical scavenging activity, ripe Daebong persimmon, wine

서 론

감나무(*Diospyros kaki*)는 동양이 원산지로서 아열대로부터 온 대에 이르는 넓은 지역에 재배되고 있다. 감의 주요 원산지는 한국, 중국 및 일본에 집중되어 있으며, 우리나라의 기후 풍토에 적합하여 중, 북부 및 일부 산간 지방을 제외하고 전국 어디서나 널리 재배되어 왔다[Cho 등, 2006; Lee 등, 2006]. 감은 붉은 감(*D. kaki* L)과 단감(*D. kaki* T)로 대별되는데, 대봉감(품종명: 갑주백복)은 교종시, 사곡시, 반시, 고령수시, 단성시, 흑시 등과 함께 붉은 감의 대표 품종으로 예부터 “과실지

왕은 감이요, 감지왕은 대봉”이라 칭할 정도로 여러 품종 중에서도 대과에 속해 굵고, 향과 맛이 뛰어나 최고의 감으로 인식되고 있다.

감은 영양 가치가 매우 높은 과일 중의 하나로 다른 과일에 비해 수분은 적은 편이며 당분은 약 14%로 주로 포도당과 과당이다. 이밖에 비타민 C 함량은 200-280 mg/kg으로 사과에 비해 4-5배 정도 높으며 무기질과 비타민 A 및 B 등이 풍부한 알칼리 식품이다. 감에는 녹차에 다량 함유되어 있는 phenolics인 gallic acid, catechin, epicatechin, epigallocatechin, catechin gallate, epicatechin gallate 및 epigallocatechin gallate 등과 같은 기능성 phenolics가 다량 함유되어 있으며 이들 물질은 항산화 기능 등이 있어서 조직의 손상방지, 노화방지, 심혈관계 질환 예방 및 항암효과가 있는 것으로 보고되고 있다[Achiwa 등, 1999; Cho 등, 2006].

감 과실은 전 세계적으로 크게 재배되지 않는 우리나라 고

*Corresponding author

Phone: +82-55-751-3272; Fax: +82-55-751-3279

E-mail: kmcho@gntech.ac.kr

유의 과실로 국제적 경제력이 높을 것으로 예상되지만 감에 대한 수요가 크지 않아 농가소득을 촉진할 만한 수준에는 이르지 못하고 있다. 감 과실을 이용한 대표적인 식품으로는 꽃감, 연화 감, 탈삼 감의 형태 및 감식초 형태가 대부분 유통되고 있으며 일부 와인제품이 판매되고 있다. 비록 대봉 연화 감 및 꽃감의 경우 다른 감에 비해 높은 가격으로 판매되고 있지만 상품성을 상실한 대봉감을 이용한 새로운 농가소득창출을 위해 다양한 식품으로 개발하는 것은 매우 중요하다. 감을 이용한 알코올 발효에 관한 것으로는 꽃감주 개발[Woo and Lee, 1994], 감 와인 제조[Ann 등, 1999], 단감을 이용한 와인 제조[Bae 등, 2002; Cho 등, 2006]와 청도반시를 이용한 와인 제조[Lee 등, 2006]에 대한 연구가 이루어져 있다.

최근 국내 주류 시장은 큰 변화를 겪고 있으며, 그 중에서도 2007년 와인의 소비는 2000년보다 2.5배 증가한 3.8×10^7 L를 소비하였다[Han 등, 2009]. 따라서 본 연구에서는 상품성을 상실한 대봉감을 이용하여 대봉감 생산자를 보호하고, 농가에 새로운 소득창출을 높이려는 목적으로 와인 형태의 대봉감 연시 와인 개발을 위한 기초 연구를 수행하여 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 및 원료의 처리. 본 연구에 사용한 대봉감은 2009년 1월과 2월 사이에 하동군 약양면 소재 농협 저온창고에 보관 중인 상품성 C급 혹은 상품성을 상실한 대봉감을 구입하여 사용하였다. 대봉감을 서늘한 곳에 20-30일간 방치하여 대봉감 연시를 제조하였다. 대봉감 연시 과즙을 제조하기 위한 방법으로는 2등분하여 씨를 제거한 대봉감 연시를 믹서기(HJ-7000, Hanil, Daejeon, Korea)를 사용하여 갈아서 파쇄한 후 10 L의 플라스틱 용기에 넣은 후 -40°C 로 급속냉동 하였다. 이를 40°C 에서 급속 해동시켜 펄프와 액을 분리시키고 액만을 치즈 크로스로 여과하여 대봉감 연시 과즙을 얻었다. 연시 과즙은 -40°C 에서 동결 보관하면서 필요에 따라 해동하여 사용하였다.

배지와 시약. 본 실험에 사용한 미생물 배양용 배지는 Difco 사 제품(Detroit, MI)을 사용하였다. 9개 표준 phenolic acids (gallic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, tannic acid 및 chlorogenic acid)와 9개 표준 flavonoids 화합물 (catechin, epicatechin, epigallocatechin, catechin gallate, epicatechin gallate, gallic acid, gallic acid gallate, epigallocatechin gallate, rutin 및 quercetin)는 Sigma Chemical Co. (Saint Louis, MO)에서 구입하였다. 10개 표준 유기산 화합물(oxalic acid, tartaric acid, malic acid, ascorbic acid, acetic acid, malic acid, citric acid, succinic acid, fumaric acid, glutaric acid) 역시 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다. 한편, High-performance liquid chromatography (HPLC)-grade H_2O , methanol, acetonitrile 및 glacial acetic acid는 Fisher Scientific (Fairlawn, NJ)에서 구입하였고 Folin-Cicalteu's phenol reagent, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) 및

기타 분석시약은 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다.

일반성분. 대봉감 연시의 일반성분은 Association of Analytical Communities (AOAC) 방법(1995) 중 Methods 3.1.03, 37.1.18, 37.1.35, 31.4.02에 의하여 분석하였다. 즉 수분은 상압가열건조법, 조회분은 550°C 직접회화법, 조단백질은 kjeldahl 법, 조지방은 soxhlet 추출법으로 분석하였고, 탄수화물은 100°C 에서 수분, 조회분, 조단백질, 조지방 함량을 뺀 값으로 정하였다.

알코올 발효효모 선발. 포도, 감식초 및 전통발효주 등을 멸균 생리식염수에 희석한 후 PD (Photo dextrose) 한천배지에 도말하여 30°C 에서 3일간 배양한 후 전형적인 *Saccharomyces cerevisiae* 계통의 효모인 CS01-05을 순수 분리하였다. 순수 분리된 효모 균주 CS01-05을 대봉감 연시 과즙에 접종하고 연시 과즙의 알코올 발효능력과 맛, 색 및 향의 관능평가를 실시하여 최종적으로 대봉감 연시 과즙의 알코올 발효에 적합한 효모 균주를 선발하였다. 한편, 한국종균협회(KCCM)에서 분양받은 *S. cerevisiae* KCCM 12650 균주를 대조군으로 사용하였다.

순수 분리된 CS0105번 균주를 PD 액체배지에 48시간 배양한 후 Intron Genomic DNA Purification kit (Intron Biotechnol. Co., Suwon, Korea)을 사용하여 genomic DNA를 분리하고 이를 주형으로 하여 polymerase chain reaction (PCR)를 통하여 26S rDNA를 증폭하였다. 증폭은 94°C 에서 1분간 변성, 52°C 에서 30초간 풀림, 72°C 에서 30초 신장으로 40 cycle로 수행되었다. 26S rDNA 단편을 증폭하기 위해 사용한 PCR primer들은 5'-ACCCGCTGAAYTTAAGCATAT-3' (forward)와 5'-CTCCTTGGTCGTTCAAGACGG-3' (reverse)이다. 증폭된 26S rDNA PCR 산물은 1% agarose에 전기영동한 후 0.6 kb 단편을 회수한 후 pGEM-T Easy (Promega, Madison, WI)를 사용하여 클로닝 하고 *Escherichia coli* DH5 α 에 형질전환 후 형질전환체를 무작위로 선정한 후 순수 분리하였다. 순수 분리된 형질전환체를 $50 \mu\text{g}$ 의 ampicillin인 함유된 Luria-Bertain (LB) 배지 및 37°C 에서 배양한 후 균체를 모집하고 Plasmid Purification Kit (Intron Biotechnol., Co.)에 기술된 대로 plasmid를 분리한 후 이로부터 염기서열을 분석하여 미국 국립생물정보센터(NCBI)의 BLAST network service를 이용하여 확인하였다.

중 배양과 발효. 냉장고에서 체대배양 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°C 의 진탕 배양기에서 160 rpm으로 48시간 중 배양하여 알코올 발효를 위한 주모로 사용하였다. 5 L 발효조에 대봉감 연시 과즙을 24 °brix로 조정하고 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 0.5 g 첨가한 후 100에서 30분간 살균 하고 중 배양한 주모를 5.0% 접종하여 25°C 에서 9일간 발효시켰다.

°Brix와 환원당. 대봉감 연시 과즙 및 발효액을 원심분리기 (Hanil micro-12, Daejeon, Korea)로 원심분리한 후 상등액을 취하여 굴절당도계(N-1 α , Atago CO., Tokyo, Japan)를 이용하여 °brix를 측정하였다. 환원당은 Miller[1959]의 dinitrosalicylic acid (DNS)법을 사용하여 분석하였다. 대봉감 과즙 및 발효액을 원심분리기로 원심분리한 후 상등액을 당 농도가 1.0 g/L

이하가 되게 희석한 후 여기에 DNS 시약을 1 mL 첨가하여 100°C의 끓는 물에서 10분 동안 발색시킨 후 냉각하여 분광광도계(Spectronic 2D, California, CL)를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선과 비교하였다. 검량선 작성을 위한 표준물질로는 포도당을 사용하였다. 각 실험은 3회 반복하여 수행하였다.

pH와 알코올. pH는 pH meter (MP 220 pH meter, London, UK)를 사용하여 측정하였다. 알코올 측정은 증류법으로 발효 중에 있는 시료 100 mL에 물 100 mL를 가하여 희석시킨 후 증류시켜 80 mL을 회수한 후 증류수 20 mL를 넣어 100 mL로 표선을 맞춘 다음 알코올계(MT-380, Atago Co.)로 측정하였다.

효모 생균수. 대봉감 연시 과즙 발효 중의 생균수 측정은 발효액을 멸균증류수로 10단 희석법으로 적당히 희석하고 용융 PCA (plate count agar)와 혼합하는 speared plate method로 접종한 다음 30°C에서 72시간 동안 배양하여 형성된 효모 집락을 계수하여 생균수를 측정하였다.

수용성 phenolics. 수용성 phenolics는 Folin-Ciocalteu법 [Singleton and Rossi, 1965]으로 측정하였다. 과즙 및 발효액을 원심분리한 후 50배 혹은 100배 희석하고 0.5 mL을 시험관에 분주하고 25% Na₂CO₃ 용액 0.5 mL을 첨가하여 3분간 정치시켰다. 다시 2N-Folin-Ciocalteu phenol 시약 0.25 mL 첨가하여 혼합한 다음 상온에서 1시간 동안 정치시켜 발색시켰다. 발색된 청색을 분광광도계(Spectronic 2D)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 phenolics 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 각 실험은 3회 반복하여 수행하였다.

유리당과 유기산. 유리당과 유기산의 분석은 Cho 등[2008]의 방법에 준하여 HPLC (Agilent 1200 series, Agilent Co., Forest Hill, Vic, Australia)를 이용하여 분석하였다.

유리당 분석은 대봉감 연시 과즙 혹은 발효액을 원심분리한 후 deionized water (DW)로 적당히 희석한 시료를 sep-pak NH₂ column (Waters Co., Milford, MA)과 0.45 µm-membrane filter (Dismic®-25CS, Toyoroshikaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 순차적으로 통과시켜 전 처리하였다. 유리당 분석 칼럼 (Polyamine II, 4.6×150 mm, 5 µm, YMC Co., Kyoto, Japan)에 전 처리한 시료 20 µL를 주입하고 30°C에서 이동상 용매 (acetonitrile:water=75:25 (v/v))를 1.0 mL/min 속도로 이동시키면서 Reflective Index (RI, Agilent 1200 series) 검출기 상에서 유리당을 검출하였다.

유기산 분석은 대봉감 연시 과즙 혹은 발효액을 원심분리한 후 상등 액을 0.45 µm-membrane filter (Toyoroshikaisha, Ltd.)를 통과시켜 입자를 제거하였다. 유기산 분석 칼럼(TSKgel ODS-100V, 4.6×250 mm, 5 µm, Tosoh Corp., Tokyo, Japan)에 전 처리한 시료 20 µL를 주입하고 55에서 이동상 용매(0.1% phosphoric acid)를 1.0 mL/min 속도로 이동시키면서 UV 검출기(Agilent 1200 series)의 210 nm에서 측정하였다.

Flavanol과 phenolic acid. Flavanol과 phenolic acid의 분석은 Cho 등[2009]의 방법에 준하여 HPLC (Agilent 1200 series)를 이용하여 분석하였다.

Flavanol 분석은 유기산 분석을 위해 전처리한 시료를 사용하였다. Flavanol 분석 칼럼(TSKgel ODS-100Z, 4.6×250 mm, 5 µm, Tosoh Corp.)에 전처리한 시료 20 µL를 주입하고 40°C에서 60-100%까지 A 용매 gradient로 10 mM KH₂PO₄ (pH 2.5) (이동상 용매 A)와 100% 메탄올(이동상 용매 B)을 이용하여 1.0 mL/min의 이동시키면서 30분간 수행하였다. UV 검출기(Agilent 1200 series)의 270 nm에서 측정하였다.

Phenolic acid 분석 역시 유기산 분석을 위해 전처리한 시료를 사용하였다. Phenolic acid 분석 칼럼(XTerra™ RP C8, 4.6×250 mm, 5 µm, Waters Co.)에 전처리한 시료 20 µL를 주입하고 30°C에서 0-100%까지 B 용매 gradient로 0.5% acetic acid (이동상 용매 A)와 100% 메탄올(이동상 용매 B)을 이용하여 1.0 mL/min의 이동시키면서 60분간 수행하였다. UV 검출기(Agilent 1200 series)의 280 nm에서 측정하였다.

DPPH 라디칼 소거활성. Blois [1958]의 방법을 약간 변형하여 전자 소거능을 측정하였다. 1.5×10⁻⁴ M DPPH 용액 0.8 mL과 원심분리한 과즙액 혹은 발효액을 0, 10, 25, 50 및 100배로 희석한 후 0.2 mL을 가하고 10초간 vortex하고 실온에서 30분 방치한 후 분광광도계(Spectronic 2D)를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성 대조구 실험은 시료 대신에 증류수를 0.2 mL를 취하여 실험하였다. 각 실험은 3회 반복하여 수행하였다. 전자 소거능은 실험구와 음성 대조구의 흡광도를 구하여 백분율(%)로 표시하였다.

ABTS^{•+} 라디칼 소거활성. 7 mM ABTs 용액과 2.45 mM potassium persulfate(K₂S₂O₈)을 1:1로 섞고, 실온의 어두운 곳에서 12-16시간 보관하여 ABTS 라디칼(ABTS^{•+})을 생성시켰다. ABTS^{•+}은 732 nm에서 흡광도가 0.7±0.02가 되도록 메탄올로 희석하여 사용하였다. 메탄올로 희석된 ABTS 용액(Abs 0.7±0.02) 0.9 mL과 원심분리한 과즙액 혹은 발효액을 0, 10, 25, 50 및 100배로 희석한 시료 0.1 mL를 섞고, 정확히 3분 후 분광광도계(Spectronic 2D)를 이용하여 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성 대조구 실험은 시료 대신에 증류수를 0.2 mL를 취하여 실험하였다. 각 실험은 3회 반복하여 수행하였다. ABTS^{•+} 라디칼 소거활성은 실험구와 음성 대조구의 흡광도를 구하여 백분율(%)로 표시하였다[Fellegrin 등, 1999].

관능평가. 각 알코올 발효액을 6,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 효모 세포를 포함하여 입자를 제거한 후 4°C에서 10일간 저장하여 숙성시킨 다음 관능검사를 실시하였다. 관능검사를 실시하기 위하여 맛, 향 및 색깔에 대해 분별력이 우수한 학생 20명을 패널로 선발하였다. 패널이 색, 맛 및 향 기호도를 0 (very bad)에서 10 (very good)까지의 점수로 평가하였다.

통계처리. 실험결과는 SPSS program (version 12.0)을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이 검증은 일원 배치 분산 분석(ANOVA)을 사용하였으며 Duncan's multiple range test에 따라 p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

대봉감 연시의 일반성분. 대봉감 연시의 일반성분 분석 결과

Table 1. Comparisons of alcohol fermentation of ripe Daebong persimmon juice¹⁾ by several yeast strains

Yeast strains	pH	Brix (°)	Viable cells (cfu/mL)	Alcohol (% v/v)
<i>S. cerevisiae</i> KCCM 12650	3.86±0.01	7.0±0.09	5.4×10 ⁶ ±1.29	8.4±0.04
<i>S. cerevisiae</i> CS01	3.88±0.02	7.0±0.07	5.5×10 ⁶ ±1.51	8.2±0.03
<i>S. cerevisiae</i> CS02	3.84±0.01	7.0±0.08	5.5×10 ⁶ ±1.43	8.4±0.03
<i>S. cerevisiae</i> CS03	3.88±0.02	7.4±0.11	5.3×10 ⁶ ±1.48	8.2±0.02
<i>S. cerevisiae</i> CS04	4.12±0.03	10.0±0.14	5.1×10 ⁶ ±1.24	7.4±0.04
<i>S. cerevisiae</i> CS05	4.06±0.02	10.0±0.17	4.9×10 ⁶ ±0.98	7.6±0.01

*All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾The ripe daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of (NH₄)₂HPO₄ was fermented at 25°C for 9 days. Initial pH, °brix and viable cell content of ripe Daebong persimmon juice 5.24, 19 and 2.0×10⁵ cfu/mL, respectively.

Table 2. Comparisons of sensory evaluation¹⁾ of ripe Daebong persimmon wine²⁾ by several yeast strains

Yeast strains	Taste	Flavor	Color
<i>S. cerevisiae</i> KCCM 12650	8.2±0.06	8.0±0.11	7.5±0.08
<i>S. cerevisiae</i> CS01	6.4±0.04	5.2±0.03	7.2±0.09
<i>S. cerevisiae</i> CS02	8.2±0.06	8.6±0.09	7.4±0.12
<i>S. cerevisiae</i> CS03	5.4±0.03	7.2±0.06	7.6±0.03
<i>S. cerevisiae</i> CS04	6.0±0.05	5.6±0.02	7.2±0.06
<i>S. cerevisiae</i> CS05	5.8±0.02	6.8±0.07	7.3±0.03

*All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾Rating scale; 0 (very bad) to 10 (very good).

²⁾The ripe daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of (NH₄)₂HPO₄ was fermented at 25°C for 9 days. Initial pH, °brix and viable cell content of ripe Daebong persimmon juice 5.24, 19 and 2.0×10⁵ cfu/mL, respectively.

Table 3. Effect of inoculation concentration of strain CS02 on alcohol fermentation of ripe Daebong persimmon juice¹⁾

Inoculation Con. (% v/v) ²⁾	pH	Brix (°)	Viable cells (cfu/mL)	Alcohol (% v/v)
1.0	3.97±0.02	13.2±0.14	3.6×10 ⁶ ±1.63	4.8±0.01
2.5	3.87±0.02	10.8±0.11	4.5×10 ⁶ ±1.21	7.0±0.03
5.0	3.85±0.03	7.0±0.08	5.6×10 ⁶ ±1.18	8.4±0.02

*All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾The ripe Daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of (NH₄)₂HPO₄ was fermented at 25°C for 9 days. Initial pH and °brix of ripe Daebong persimmon juice 5.24 and 19, respectively.

²⁾*S. cerevisiae* CS02 was inoculated from 1.0 to 5.0% (v/v) into ripe Daebong persimmon juice.

수분 80.0%, 조단백질 0.27%, 조지방 0.92%, 회분 0.30% 및 탄수화물 18.51%로 나타났다(data not shown). Shin 등[2000]의 적과 부유 단감의 일반성분 결과 수분 89.08%, 조단백질 0.75%, 조지방 0.56%, 회분 0.26%으로 보고하였으며, Lee 등[2006]은 청도반시의 경우 수분 77.52%, 조단백질 0.32%, 조지방 0.14%, 회분 0.52%로 보고하였다. 이는 감 품종 및 숙성 정도의 차이에 기인한 것으로 추정되었다.

대봉감 연시 과즙의 알코올 발효조건 확립. 대봉감 연시 과즙의 알코올 발효에 적당한 효모 균주를 선정하기 위해 포도, 감식초 및 진통발효주로부터 *S. cerevisiae* 형태의 균주 CS01-CS05를 분리한 후 26S rDNA 염기서열을 분석한 결과 NCBI에 등록되어 있는 기존의 *S. cerevisiae* 균주들과 99-100% 유사성을 나타냈었다(data not shown). 한편 분리 효모 균주들과 KCCM 12650(대조구)을 대봉감 연시 과즙에 접종하여 알코올 발효를 한 결과 균주 CS01-CS03이 비교적 알코올 발효능력이 대조구의 KCCM 12650 균주와 유사하였다. 그 중 *S. cerevisiae* CS02 균주가 발효능(발효 9일째 알코올 생성량 8.4%)뿐만 아니라(Table 1) KCCM 12650 균주보다 방향이나 맛이 더 좋아 대봉감 과즙의 알코올 발효 균주로 CS02를 최종

적으로 선정하였다(Table 2).

Choi 등[2006]은 복분자 효모, *S. cerevisiae*, 약주 효모를 대상으로 복분자 발효주를 제조하였을 때 *S. cerevisiae*가 가장 높은 알코올을 생산한다고 보고하였다. 한편, Kim 등[2008] 역시 오디 와인 제조 시 *S. cerevisiae*가 알코올 발효능, 맛, 향 및 색의 유지가 우수한 것으로 보고하였다.

효모 접종량이 대봉감 과즙의 알코올 발효에 미치는 영향을 살펴본 결과 Table 3과 같았다. 균 접종량이 증가할수록 알코올 함량이 증가함을 알 수 있었고 균 접종량 5.0%일 경우 발효 9일째 pH 3.85, 7.0°brix, 생균수 5.6×10⁶ cfu/mL 있었으며, 알코올 생성량은 8.4%로 나타났다.

알코올 발효 시 과즙에 질소원이 충분하지 않으면 발효 지연이 일어나는 경우가 있어 대봉감 연시 과즙에 (NH₄)₂HPO₄를 0-1.0 g/L (w/v) 첨가하여 알코올 발효 경향을 살펴본 결과 Table 4와 같았다. 0.5 g/L 첨가의 경우 발효 9일째 pH 4.11, 6.2°brix, 생균수 5.9×10⁶ cfu/mL 있었고 알코올 함량이 8.8% 이상 생성되었다. 한편 0.75 g/L 이상 첨가 시 알코올 생성량은 0.5 g/L와 유사하였으나, 발효 9일째에도 상당히 높은 pH를 유지하고 있어 숙성이나 저장 중 2차 오염 등이 예상되었다. 단

Table 4. Effect of ammonium phosphate concentration on alcohol fermentation from ripe Daebong persimmon juice¹⁾

(NH ₄) ₂ HPO ₄ Con. (% w/v)	pH	Brix (°)	Viable cells (cfu/mL)	Alcohol (% v/v)
0	3.85±0.01	7.2±0.18	5.7×10 ⁶ ±1.31	8.2±0.03
0.25	4.02±0.02	6.8±0.11	5.9×10 ⁶ ±1.08	8.4±0.04
0.5	4.11±0.02	6.2±0.09	5.9×10 ⁶ ±0.88	8.8±0.01
0.75	4.97±0.02	6.4±0.08	5.9×10 ⁶ ±1.28	8.8±0.02
1.0	5.12±0.03	6.4±0.12	5.9×10 ⁶ ±1.21	8.6±0.01

*All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾*S. cerevisiae* CS02 was inoculated into ripe Daebong persimmon juice and was fermented at 25°C for 9 days. Initial pH and viable cell content of ripe Daebong persimmon juice 5.15, 19 and 1.8×10⁵ cfu/mL, respectively.

Table 5. Effect of °brix on alcohol fermentation of ripe Daebong persimmon juice¹⁾

Initial brix (°)	pH	Brix (°)	Viable cells (cfu/mL)	Alcohol (% v/v)
18.8	4.09±0.02	7.2±0.15	6.1×10 ⁶ ±1.14	8.4±0.03
22	4.08±0.03	9.6±0.21	6.1×10 ⁶ ±1.21	11.8±0.05
24	4.03±0.01	10.2±0.16	6.1×10 ⁶ ±1.22	12.4±0.01
26	4.13±0.02	13.0±0.11	5.6×10 ⁶ ±0.94	12.0±0.03

*All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾*S. cerevisiae* CS02 was inoculated into ripe Daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of (NH₄)₂HPO₄ and was fermented at 25°C for 9 days. Initial pH and viable cell content of ripe Daebong persimmon juice 6.62 and 2.2×10⁵ cfu/mL, respectively.

Table 6. Effect of temperature on alcohol fermentation of ripe Daebong persimmon juice¹⁾

Temperature (°C)	pH	Brix (°)	Viable cells (cfu/mL)	Alcohol (% v/v)
20	4.15±0.02	10.8±0.16	5.8×10 ⁶ ±1.58	12.0±0.05
25	4.05±0.02	9.8±0.12	6.0×10 ⁶ ±2.51	12.4±0.02
30	4.22±0.02	9.6±0.09	5.9×10 ⁶ ±1.52	12.6±0.03

*All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾*S. cerevisiae* CS02 was inoculated into ripe Daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of (NH₄)₂HPO₄ and 24 °brix of sugar and there were fermented at 20 to 30°C for 9 days. Initial pH, °brix and viable cell content of ripe Daebong persimmon juice 6.61, 24 and 2.1×10⁵ cfu/mL, respectively.

감 과즙에 (NH₄)₂HPO₄를 1.0 g/L까지 첨가하여 알코올 발효를 시킨 결과 0.5 g/L 이상인 경우 알코올 함량이 9.2% 생산된다고 보고하였으며[Cho 등, 2006], Hwang 등[2004]은 수박의 알코올 발효에서 질소원으로 (NH₄)₂HPO₄를 처리하였을 때 가장 알코올 발효능력이 뛰어났고 농도가 증가함에 따라 알코올 생성력이 증가함을 보고하였다. 한편 Jung 등[2003]은 살구 와인 제조 시 (NH₄)₂HPO₄의 첨가가 필요하다고 하였다.

일반적인 와인의 알코올 함량은 9-14% 전후로 알코올 함량이 12% 이하가 되면 와인이 쉽게 부패하는 경향이 있으며, 높은 당 농도의 경우 효모가 증식을 하지 못한다. 대봉감 연시 과즙의 경우 17-19°brix로 12% 정도의 알코올 생성을 위해서는 보당할 필요가 있다. 그래서 대봉감 연시 과즙에 설탕으로 19-26°brix 보당한 후 알코올 발효를 살펴본 결과 °brix가 24까지 증가함에 따라 알코올 생산량도 증가하였으며, 발효 9일째 12.4%의 알코올이 생산되었으나 26°brix 이상의 당 농도에서는 12.0±0.04%로 생산량이 약간 감소하였다(Table 5). 이는 무화과[Jung 등, 2003], 수박[Hwang, 2004] 및 단감[Cho 등, 2006]을 이용한 와인 제조 시 당 농도가 24°brix를 초과했을 때 생성된 알코올 함량이 24°brix일 때 보다 적어지는 것과 같은 결과를 보였다. 이처럼 발효력이 떨어지는 것은 당의 삼투압 작용에 의해 효모의 활성이 떨어지기 때문으로 보고되고 있다[Lee 등, 1972].

발효온도가 대봉감 연시 과즙의 알코올 발효에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 6과 같았다. 온도가 30°C까지 증가함에 따라 알코올 생산량이 증가하는 경향을 나타냈다. 30°C에서 발효 시 이상취가 나타났다. 그래서 알코올 생산량과 관능적인 면, 발효 시간 등을 고려할 때 발효 온도는 25°C가 적합한 것으로 판단되었다. 일반적으로 발효 온도가 높으면 무산균과 과일즙 중의 유산균 등이 생육이 촉진되어 이상 발효가 일어나고 지나치게 발효 온도가 낮으면 효모의 생육이 저해를 받아 에탄올 생성 수율이 낮아진다[Jones 등, 1981]. 한편 Kim 등[2008] 역시 오디 와인 발효 시 에탄올 생성량과 색도, 맛 등을 고려할 때 26°C가 가장 적합한 것으로 보고하였다.

대봉감 연시 과즙의 알코올 발효 특징. 대봉감 연시 과즙에 0.5% (w/v) (NH₄)₂HPO₄ 및 설탕으로 24°brix 보당한 후 80°C에서 30분간 살균하고 냉각 후 *S. cerevisiae* CS02를 5% (v/v) 접종하여 25°C에서 9일간 발효를 진행시킨 결과 Fig. 1에서와 같이 효모의 증식에 따라 pH는 감소하고 이에 상응하여 산도는 증가하며, 또한 효모가 당을 소비하여 알코올을 생성하는 전형적인 알코올 발효경향을 보였다.

시간이 경과함에 따라 °brix와 환원당은 급격히 감소하여 발효 9일째 8.4±0.08°brix와 환원당 10.62±0.94 g/L 있었으며 (Fig. 1A와 B), 이에 상응하여 세포 증식은 급격히 증가하여 발효시간이 3일 경과하면서 최고 균수에 도달하였고 이 후에는

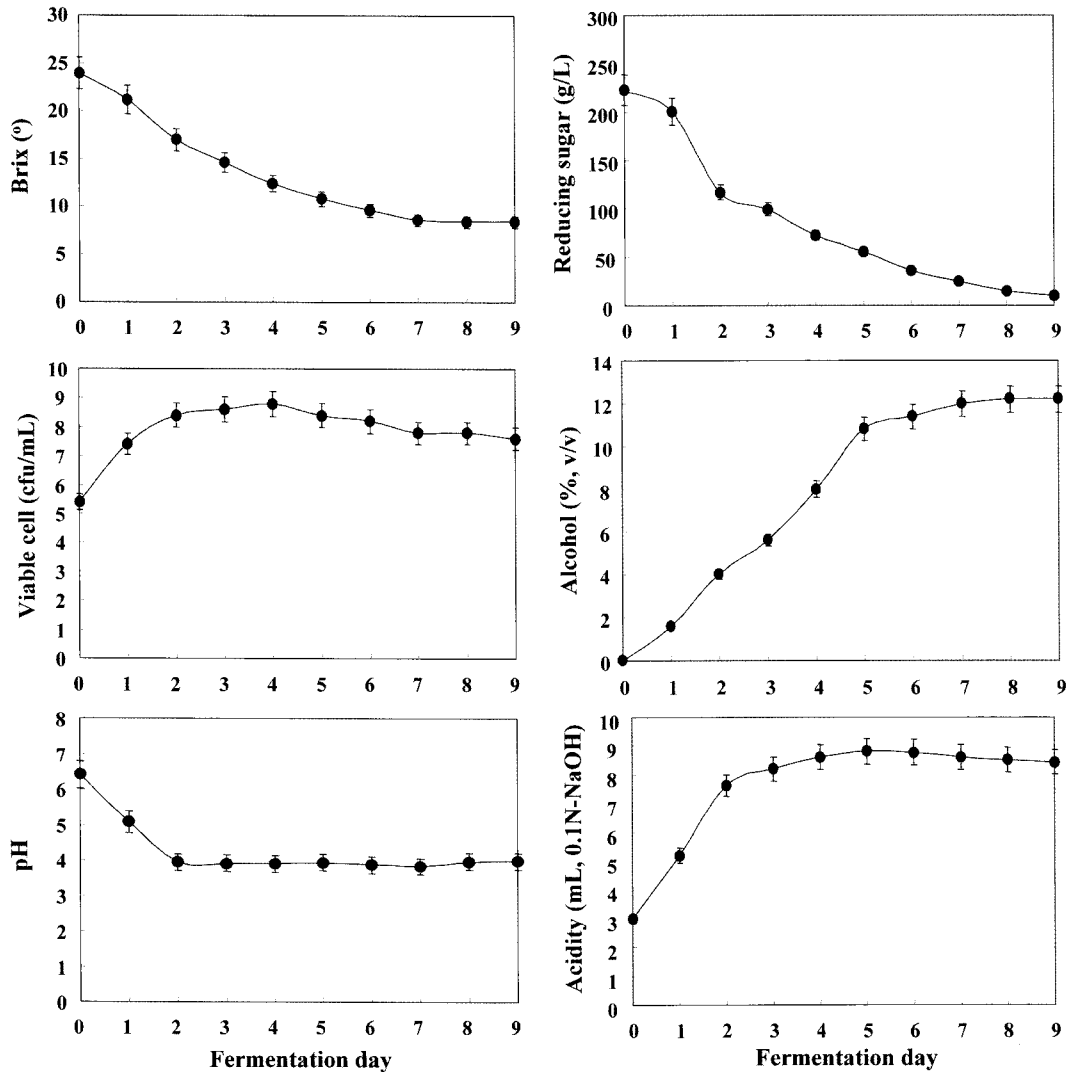


Fig. 1. Typical time courses of alcohol fermentation of ripe Daebong persimmon juice. *S. cerevisiae* CS02 was inoculated into ripe Daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of $(NH_4)_2HPO_4$ and 24°brix of sugar and it was fermented at 25°C for 9 days. All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations. A: °Brix, B: Reducing sugar, C: Viable cell, D: Alcohol, E: pH, F: Titratable acidity.

일정하게 유지되었다(Fig. 1C). 알코올 생성은 발효시간이 1일 경과(세포 증식이 대수 중기에 해당하는 시점)하면서부터 급격히 증가하여 발효 9일에서 12.2±0.02%의 알코올이 생성되었다(Fig. 1D). 발효 경과에 따른 pH 변화는 Fig. 1E에서 보는 바와 같이 초기 pH 6.41±0.03 에서 발효 2일째(pH 3.94±0.02) 경과 시 급격히 낮아진 후 9일째까지 일정하게 유지되었으나 이에 반해 산도는 발효 초기 2.98±0.05 mL에서 발효 2일째 경과 시 급격히 증가한 후 발효 5일째까지 서서히 증가하였고 발효 9일째(8.44±0.08 mL) 약간 감소하였다(Fig. 1F).

한편 수용성 phenolics의 변화는 발효 초기 732±0.97 mg/L에서 발효 중기인 571±0.64 mg/L로 약간 낮아졌으며, 갈변도는 0.176±0.01~0.162±0.01 수준으로 거의 변화가 없었다(Fig. 2). 갈변도는 와인의 품질을 결정하는 중요 항목 중 하나로 phenolics 함량, 미생물 활성 등에 영향을 받는다. 일반적으로 phenolics가 감소한다는 것은 phenolics의 산화 분해와 이에 따른 갈변도 증가를 의미하는데 대봉감 연시 과즙 발효 과정에서는 비교적 안정하게 유지되었다[Song 등, 1988]. Cho 등[2006]

의 단감 과즙 발효에 관한 연구에서 수용성 phenolics는 749-779 mg/L 수준을 유지하면서 갈변도는 0.06-0.08로 거의 변화가 없는 것으로 보고하여 본 연구결과와 유사하였다. 이상의 결과에서 알 수 있듯이 발효 9일 경과 시 잔당이 약간 남아 있어 숙성 과정이 필요할 것으로 판단되었다.

대봉감 연시 과즙과 와인의 이화학적 특성. 대봉감 연시 과즙과 와인의 이화학적 특징인 Table 7과 같았다.

대봉감 연시 과즙의 °brix는 18.8±0.13, 환원당은 69.14±0.94 g/L, pH는 6.46±0.02, 산도 2.69±0.07 mL있었으나, 발효가 끝난 대봉감 연시 와인의 경우에는 과즙의 °brix는 8.0±0.09, 환원당은 9.24±1.06 g/L, pH는 4.02±0.02, 산도 8.38±0.13 mL 있었다(Table 7).

대봉감 연시 과즙의 주요 유리당은 fructose 23.72±1.49 g/L, glucose 35.16±2.79 g/L가 검출되었고 sucrose는 검출이 되지 않았다. 와인의 경우에는 fructose 0.12±0.02 g/L이 검출되었으나, sucrose와 glucose는 검출되지 않았다(Table 7). 꽃감주[Woo and Lee, 1994], 복분자주[Choi 등, 2006] 및 오디 와인[Kim

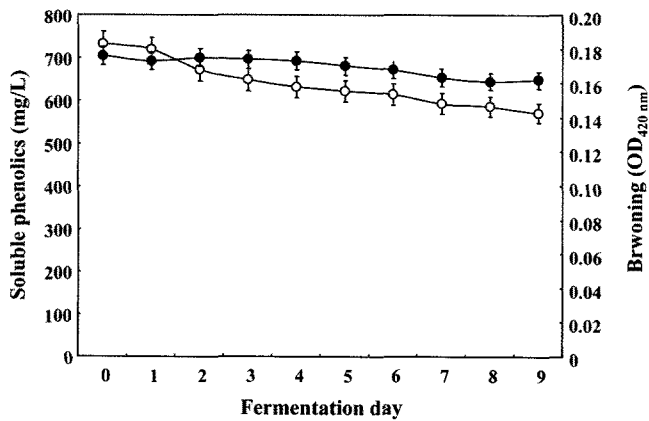


Fig. 2. Change of soluble phenolic content and browning during the alcohol fermentation of ripe Daebong persimmon juice. *S. cerevisiae* CS02 was inoculated into ripe Daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and 24°brix of sugar and it was fermented at 25°C for 9 days. All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations. Soluble phenolics (○), Browning (●).

Table 7. Some physicochemical characteristics of ripe Daebong persimmon juice and wine

Physicochemical characteristics	Contents	
	Juice	Wine ¹⁾
Brix (°)	18.8±0.13	8.0±0.09
Reducing sugar (g/L)	69.14±0.94	9.24±1.06
pH	6.46±0.02	4.02±0.02
Titrate acidity (mL, 0.1 N-NaOH)	2.69±0.27	8.38±0.43
Free sugar (g/L)		
Fructose	23.72±1.49	0.12±0.02
Glucose	35.16±2.79	nd
Sucrose	nd ²⁾	nd
Total	58.88±2.12	0.12±0.02
Free organic acid (g/L)		
Acetic acid	1.09±0.02	1.50±0.02
Ascorbic acid	2.98±0.04	2.81±0.03
Citric acid	9.29±0.06	13.63±0.05
Fumaric acid	1.19±0.05	1.84±0.01
Glutaric acid	nd	nd
Lactic acid	6.48±0.08	7.15±0.12
Malic acid	10.17±0.09	35.92±0.24
Oxalic acid	7.85±0.11	22.14±0.02
Succinic acid	2.64±0.03	8.12±0.07
Tartaric acid	nd	2.13±0.03
Total	41.69±1.37	95.24±1.22

*All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾*S. cerevisiae* CS02 was inoculated into ripe Daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and was fermented at 25°C for 9 days.

²⁾nd, not detected.

등, 2008] 발효 과정 중 효모의 당 이용성이 sucrose, glucose, fructose 순인 것으로 보고하여 본 연구결과에서 소량의 fructose가 남은 것은 효모의 당 이용성에 기인한 것으로 판단되었다.

대봉감 연시 과즙의 유기산으로 acetic acid 1.09±0.02 g/L, ascorbic acid 2.98±0.04 g/L, citric acid 9.29±0.06 g/L, fumaric acid 1.19±0.05 g/L, lactic acid 6.48±0.08 g/L, malic acid 10.17±0.09 g/L, oxalic acid 7.85±0.11 g/L, succinic acid 2.64±0.03 g/L이 검출되었다. 반면에 대봉감 연시 와인의 경우 acetic acid 1.50±0.02 g/L, ascorbic acid 2.81±0.03 g/L, citric

Table 8. Distributions of flavanol and phenolic acid of ripe Daebong persimmon juice and wine

Pytochemical contents (mg/L)	Contents	
	Juice	Wine ¹⁾
Soluble phenolics	792±1.04	564±0.76
Flavonoids		
Catechin	nd ²⁾	nd
Catechin gallate	65.52±0.11	38.99±0.32
Epicatechin	nd	nd
Epicatechin gallate	137.27±1.23	110.21±0.16
Epigallocatechin	13.84±0.05	15.97±0.18
Epigallocatechin gallate	nd	nd
Gallocatechin gallate	nd	nd
Rutin	nd	nd
Quercetin	nd	nd
Total	216.63±1.08	165.17±0.24
Phenolic acids		
Caffeic acid	nd	nd
Chlorogenic acid	nd	nd
γ-Coumaric acid	nd	nd
Ferulic acid	nd	nd
Gallic acid	132.71±1.43	163.88±2.11
γ-Hydroxybenzoic acid	nd	nd
Protocatechuic acid	nd	nd
Tannic acid	14.39±0.03	13.36±0.02
Vanillic acid	nd	nd
Total	147.10±0.18	177.24±1.32

*All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾*S. cerevisiae* CS02 was inoculated into ripe Daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and was fermented at 25°C for 9 days.

²⁾nd, not detected.

acid 13.63±0.08 g/L, fumaric acid 1.84±0.01 g/L, lactic acid 7.15±0.12 g/L, malic acid 35.92±0.24 g/L, oxalic acid 22.14±0.11 g/L, succinic acid 8.12±0.03 g/L, tartaric acid 2.13±0.03 g/L이 검출되었다. 또한 malic acid는 과즙보다 약 3.6배, succinic acid는 3배, oxalic acid는 약 2.7배, citric acid 1.5배 정도 많이 검출되었으며, 과즙에서는 검출되지 않은 tartaric acid가 2.13±0.03 g/L가 검출되었다(Table 7). 이는 효모의 발효과정에서 tricarboxylic acid cycle (TCA) 회로의 대사 중간체 축적에 기인한 것으로 추정되어진다. 오디 와인[Kim 등, 2006; Kim 등, 2008]과 단감와인의 연구결과에서도 malic acid는 2배와 3.7배 증가하였다고 보고하였다. 와인 제조 시 citric acid와 malic acid는 맛에 중요한 성분으로 citric acid는 와인의 향에 신선함을 증가시키고 malic acid는 와인의 신맛을 부드럽게 만들어 준다. 본 연구 결과 대봉감 연시 와인은 citric acid와 malic acid가 각각 14.3%와 47.1%로 와인의 향과 맛에 있어 신선하고 부드러운 풍미를 부여하는 것으로 추정되었다.

대봉감 연시 과즙과 와인의 flavonoids과 phenolic acids 함량. 대봉감 연시 과즙과 와인의 수용성 phenolics, flavonoids 및 phenolic acids 함량은 Table 8과 같았다.

대봉감 연시 과즙의 수용성 phenolics 함량은 792±1.04 mg/L 있었고 대봉감 연시 와인은 564±0.76 mg/L로 감소하였다. 대봉감 연시 과즙의 flavonoids 은 catechin gallate 65.52±0.11 mg/L, epicatechin gallate 137.27±1.23 mg/L, epigallocatechin 13.84±0.05 mg/L 있었으며, 와인의 경우에는 catechin gallate와

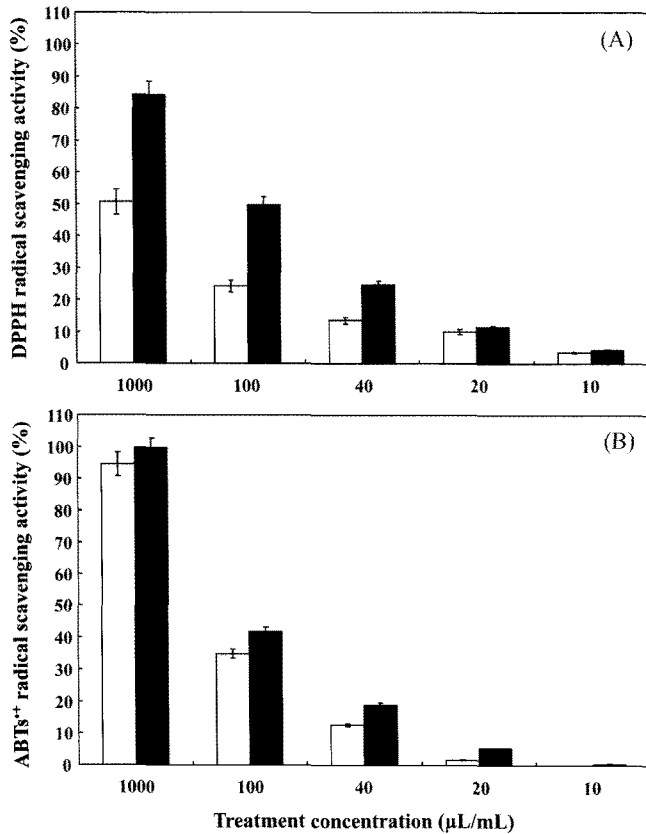


Fig. 3. Comparisons of DPPH and ABTS^{•+} radical scavenging activities of ripe Daebong persimmon juice and wine. *S. cerevisiae* CS02 was inoculated into ripe Daebong persimmon juice containing 0.5% (w/v) of (NH₄)₂HPO₄ and 24°brix of sugar and it was fermented at 25°C for 9 days. All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations. Juice (□), wine (■).

epicatechin gallate는 감소하여 각각 38.99±0.32 mg/L와 110.21±0.16 mg/L 있었고 epicatechin gallate은 약간 증가하여 15.97±0.18 mg/L 있었다. 전체 flavanol 함량은 과즙(216.63±1.08 mg/L)보다 와인(165.17±0.24 mg/L)이 23.7% 감소하였다. 대봉감 연시 과즙의 phenolic acids는 gallic acid 132.71±1.43 mg/L, tannic acid 14.39±0.03 mg/L이 검출되었으며, 와인은 gallic acid는 증가하여 163.88±1.11 mg/L, tannic acid는 약간 감소하여 13.36±0.02 mg/L이 검출되었다. 총 phenolic acid는 과즙(147.10±1.18 mg/L)보다 와인(177.24±1.32 mg/L)이 17.0% 증가하였다.

본 실험에서 catechin gallate과 epicatechin gallate의 함량은 과즙보다 와인에서 감소한 반면에 gallic acid는 이에 상응하여 증가하였다. 이는 발효 과정 중 생성되는 산이나 미생물 유래 esterase 등의 효소에 기인한 것으로 추정되었다. Cho 등[2009]은 발효 중 미생물이 생성하는 esterase의 효소에 의해 ester 결합이 분해되어 gallic acid가 증가한다고 보고하였다.

대봉감 연시 과즙과 와인의 라디칼 소거활성. 대봉감 과즙과 와인의 DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS^{•+} 라디칼 소거활성은 처리농도(10, 20, 40, 100, 및 1000 µL/mL)가 감소함에 따라 이에 상응하여 활성 역시 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3).

대봉감 연시 과즙 원액의 DPPH 라디칼 소거활성은 50.57%

있었지만 와인은 84.25%로 증가하였다(Fig. 3A). 한편 ABTS^{•+} 라디칼 소거 활성은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS^{•+} 라디칼이 시료의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 점을 이용한 측정방법이다[Fellegrin 등, 1999]. 대봉감 연시 과즙 원액의 ABTS^{•+} 라디칼 소거활성은 94.56% 있었으나, 와인은 99.65%로 증가하였다(Fig. 3B). 비록 수용성 phenolics와 phytochemicals 함량은 감소하였으나, epigallocatechin 및 gallic acid, 유기산의 증가로 대봉감 과즙보다 와인이 라디칼 소거활성이 높게 나타난 것으로 판단되었다. 특히 epigallocatechin과 gallic acid는 식품에서 라디칼 소거활성 뛰어난 것으로 알려져 있으며[Rózek 등, 2007; Cho 등, 2009], 대부분의 유기산은 carboxyl기에 음전하(COO⁻)를 띄고 있어 전자(수소)를 소거할 수 있는 능력 있다[Cho 등, 2008].

초 록

대봉감의 이용성 증대를 위하여 경남 하동군 악양면에서 생산된 대봉감으로 새로운 기능성 대봉감 연시 와인을 제조하고, 그 특성을 조사하였다. 대봉감 연시 와인의 최적 발효 조건을 위하여 효모 균주는 알코올 생성력과 방향이 가장 우수한 *Saccharomyces cerevisiae* CS02를 선정했다. 초기 효모 접종량 5%, (NH₄)₂HPO₄ 농도 0.5%와 24°brix로 보당 하고 발효온도 25°C에서 알코올 생성력이 가장 우수하였다. 최적의 발효 조건으로 대봉감 연시 과즙을 발효하였을 때 9일 경과 시 알코올 함량은 12.2±0.02%과 생성되었으며, pH 3.97±0.02로 급격히 감소하였다. 대봉감 연시 와인의 유리당은 fructose (0.12±0.02 g/L)가 소량 검출되었으며, 주요 유기산은 malic acid (35.92±0.24 g/L), succinic acid (8.12±0.03 g/L), oxalic acid (22.14±0.11 g/L) 및 citric acid (13.63±0.08 g/L) 있었고 flavonoids와 phenolic acids는 catechin gallate (38.99±0.32 mg/L), epicatechin gallate (110.21±0.16 mg/L), epigallocatechin (15.97±0.18 mg/L), gallic acid (43.88±1.11 mg/L) 및 tannic acid (3.36±0.02 mg/L)가 검출되었다. 한편 유기산과 phenolic acids 함량이 증가함으로써 이에 상응하여 DPPH 라디칼(84.25%)과 ABTS^{•+} 라디칼 소거 활성(99.65%) 역시 증가하였다.

Key words: 대봉감 연시, 라디칼 소거 활성, 와인, 유기산, 페놀릭 산

감사의 글

본 연구는 2009년 하동군농업기술센터의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

참고문헌

Achiwa Y, Hibasmi H, Katsuzaki H, Iami K, and Komiya T (1999) Inhibitory effects of persimmon (*Diospyros kaki*) extract and related polyphenol compounds on growth of human lymphoid

- leukemi cells. *Biosci Biotechnol Biochem* **61**, 1099-1101.
- Ann YG, Pyun JY, Kim SK, and Shin CS (1999) Studies on persimmon wine. *Korean J Food Nutr* **12**, 455-461.
- Bae SM, Park KJ, Kim JM, Shin DJ, Hwang YI, and Lee SC (2002) Preparation and characterization of sweet persimmon wine. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* **45**, 66-70.
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 119-200.
- Cho KM, Ahn BY, and Seo WT (2008) Lactic acid fermentation of *gamju* manufactured using medicinal herb decoction. *Korean J Food Sci Technol* **40**, 649-655.
- Cho KM, Hong SY, Math RK, Lee JH, Kambiranda DM, Kim JM, Md. Islam SA, Yun MG, Cho JJ, Lim WJ, and Yun HD (2009) Biotransformation of phenolics (isoflavones, flavanols and phenolic acids) during the fermentation of *cheonggukjang* by *Bacillus pumilus* HY1. *Food Chem* **114**, 413-419.
- Cho KM, Lee JB, Kahng GG, and Seo WT (2006) A study on the making of sweet persimmon (*Diospyros kaki*, T) wine. *Korean J Food Sci Technol* **38**, 785-792.
- Choi HS, Kim MK, Park HS, Kim YS, and Shin DH (2006) Alcoholic fermentation of bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) wine. *Korean J Food Sci Technol* **38**, 543-547.
- Fellegrin N, Ke R, Yang M, and Rice-Evans C (1999) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Met Enzymol* **299**, 379-389.
- Han WC, Ji SH, Lee JC, Cheong C, Kang SA, and Jang KH (2009) Quality characteristics of apple wine fermented with *Rosa rugosa* Thumb. *Korean J Food Preserv* **16**, 311-316.
- Hwang Y, Lee KK, Jung GT, Ko BR, Choi DC, Choi YG, and Eun JB (2004) Manufacturing of wine with watermelon. *Korean J Food Sci Technol* **36**, 50-57.
- Jones RP, Pamment N, and Greenfield DF (1981) Alcohol fermentation by yeasts the effect of environmental and other variables. *Process Biochem* **16**, 42-49.
- Jung GT, Ju IO, Ryu J, and Choi YG (2003) Studies on manufacture of wine using apricot. *Korean J Food Preserv* **10**, 493-497.
- Kim HR, Kwon YH, Kim HB, and Ahn BH (2006) Characteristics of mulberry fruit and wine with varieties. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **49**, 209-214.
- Kim YS, Jeong DY, and Shin DH (2008) Optimum fermentation conditions and fermentation characteristics of mulberry (*Morus alba*) wine. *Korean J Food Sci Technol* **40**, 63-69.
- Lee HB, Yang CB, and Yoo TJ (1972) Studies on the chemical composition of some fruit vegetable and fruits in Korea (I). *Korean J Food Sci Technol* **4**, 36.
- Lee SW, Lee OS, Jang SY, Jeong YJ, and Kwon JH (2006) Monitoring of alcohol fermentation condition for 'chenogdobansi' astringent persimmon (*Diospyros kaki* T.). *Korean J Food Preserv* **13**, 490-494.
- Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar. *Anal Chem* **31**, 426-428.
- Rózek A, Achaerandio I, Almajano MP, Guell C, Lopez F, and Ferrando M (2007) Solid foodstuff supplemented with phenolics from grape: Antioxidant properties and correlation with phenolic profiles. *J Agri Food Chem* **55**, 514-5155.
- Shin DJ, Kim KH, and Sung TS (2000) Physicochemical properties of prepersimmon. *Korean J Food Nutr* **13**, 440-445.
- Singleton VL and Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult* **16**, 144-158.
- Song DH, Kim CJ, Rho TW, and Lee JS (1988) Phenolics content and browning capacity during the white wine making. *Korean J Food Sci Technol* **20**, 787-793.
- Woo KL and Lee SH (1994) A study on wine-making with dried persimmon produced in Korea. *Korean J Food Sci Technol* **26**, 204-212.