

Vitis vinifera 적포도주 휘발성분의 분리 및 동정

이용수* · 최진상 · 심기환†

경상대학교 식품공학과

*대선주조 주식회사

Isolation and Identification of Volatile Compounds from Red Wine Manufactured with *Vitis vinifera* grapes

Yong-Soo Lee*, Jine-Shang Choi and Ki-Hwan Shim†

Dept. of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

*Dae Sun Distilling Co. Ltd., Pusan 607-125, Korea

Abstract

In order to investigate some chemical components, higher alcohols, ethyl acetate and volatile compounds of *Vitis vinifera* red wines were analyzed by HPLC, GC and GC-MS. During the process of ripening for the content of wine and acids were much changed, particularly the content of tartaric acid was decreased largely. Content of total phenolics and phenol flavonoid in wines which manufactured with Malbec varieties as 470mg/L and 245mg/L respectively, was higher than those in Cabernet sauvignon (310mg/L, 135mg/L) and Cabernet franc (425mg/L, 125mg/L) wines, and nonflavonoid was higher in Cabernet franc wine (300mg/L) than in others. Content of acetaldehyde was higher in Malbec wine (33mg/L) than in Cabernet sauvignon (26mg/L) and Cabernet franc (28mg/L) wines. Amount of methyl alcohol, propanol and isoamyl alcohol were higher in Cabernet sauvignon wine than in others, and isobutanol was more in Malbec wine (64mg/L), ethyl acetate was more in Cabernet franc wine as 35mg/L than in Malbec (28mg/L) and in Cabernet sauvignon (23mg/L) wines. Volatile compounds were isolated about 87~91 varieties from concentrates of three red wines by GC, and thirty-five compounds including terpine-4-ol were identified by GC-MS.

Key words : *Vitis vinifera* red wines, higher alcohols, volatile compounds

서 론

포도주는 BC 3000년경 이전부터 제조되었고, 현재는 전세계에서 생산되고 있다¹⁾. 우리나라에서 포도주의 상업적 생산은 약 20년 전으로서 다른 나라에 비하여 짧은 역사를 가지고 있으며, 생산량도 적다. 또한 유럽과 미국 등지에서는 포도의 생산에서부터 포도주의 전생산과정에 관한 연구가 광범위하고 깊게 연구되어 있으나^{2,3)}, 우리나라에서는 양조용 포도에 관한 연구^{4,5)}와 포도주 제조에 관한 연구 등⁶⁻⁸⁾으로서 수편에 불과하며, 순수 유럽계 적포도 품종의 재배와 이들 품종을 이용한 포도주 제조에 관한 연구는 거의 없다. 또한 포도주의 발효후의 휘발성분과 숙성중의 휘발성분

역시 유럽, 미국 및 일본 등지에서 많이 연구되어 왔으나^{2,3,9-12)}, 우리나라에서는 이러한 연구가 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 적포도주 제조를 목적으로 프랑스로부터 도입하여 경상남도 의창군에서 시험재배중인 (1989년도산) Cabernet sauvignon, Cabernet franc 및 Malbec 등의 순수 유럽계 적포도의 포도주 제품간의 휘발성분을 GC, GC-MS 등으로 분리 및 동정하여 비교하였다.

재료 및 방법

적포도주의 제조

경남 의창군 근교 농장에서 재배하여 1989년 9월 7

† To whom all correspondence should be addressed

일 수확한 양조용 적포도 품종인 Cabernet sauvignon, Cabernet franc 및 Malbec을 본 실험의 재료로 사용하였다. 성숙된 시료를 각각 15kg을 수확하여 줄기를 제거하고, K₂S₂O₅를 100mg/L 첨가하여 crushing한 후 건조효모 (*Saccharomyces byanus* Epenay) 200mg/L을 40°C의 온수에 rehydration 후 첨가하여 20°C에서 발효시켰다. 발효진행중 1일 4~6회씩 상하교반하여 color의 추출을 용이하게 하고 상부층의 이상발효를 방지하였다. 또한 알코올의 농도가 5~6% 생성되었을 때 발효중인 술덧을 70% (v/w)되게 착즙한 후 알코올의 농도가 11%되도록 설탕을 첨가하여 재발효시켰다. 발효가 완료된 시료는 앙금을 분리시켜 -4°C에 2주간 저장하여 주석산의 침전을 유도하였고, 그 후 gelatin을 800 mg/L 처리하여 과잉의 polyphenolics를 제거하는 청징처리 후 저장하면서 분석에 사용하였다.

기타성분의 분석

Ethyl alcohol, 총산, pH, 총 ester, 총 SO₂, 총질소 및 phenolic compounds의 분석은 Amerine 등³⁾의 방법으로 분석하였다.

유기산, 알콜류 및 ethyl acetate의 분석

유기산은 이 등¹³⁾의 분석방법에 준하였고, 발효된 포도주의 알콜류¹⁴⁾와 ethyl acetate¹⁵⁾의 분석은 시료 50ml에 중간표준물질로서 tert-amylalcohol을 100μl/L (v/v)되게 첨가한 다음 micro 증류장치로 증류하고, 증류액은 ice bath상에서 수집하고 50ml로 정용 (D.W.)하여 0.45μm membrane filter로 여과한 후 GC (Hewlett Packard 5890 series II, USA)를 이용하여 다음과 같은 조건에서 정성 및 정량분석하였다. Caropak B (6 feet × 4 inch) glass 칼럼을 사용하였고, injection 온도는 90°C, detector 온도는 190°C 그리고 oven 온도는 70°C에서 170°C까지 분당 4°C씩 상승시켰다. 표준물질 (acetaldehyde, methyl alcohol, propanol, isobutanol, isoamylalcohol, 2-methyl-1-butanol (active amylalcohol) 및 ethyl acetate, Merck사)은 특급시약을 각각 100μl/L (단, 알콜 5.2%)되게 첨가하여 얻은 표준 chromatogram을 이용하여 각각을 환산하였다.

휘발성분의 추출

제조된 포도주 250ml을 취하여 120ml의 dichloromethane으로 2회 추출한 다음 dichloromethane층을 분리시켜 여과 (Whatman No. 42)하였다. 여과된 추출물은 다시 sodium sulfate로서 탈수시킨 다음 실온 진

공하에서 250μl까지 농축하여¹⁶⁾ glass tube에 넣어 냉동보관하여 분석에 사용하였다.

휘발성분의 동정

휘발성분의 동정은 MS pattern과 IR로 확인하였으며, GC는 Hewlett Packard series 5890 II를 사용하였고, detector는 FID, FFAP capillary 칼럼 (0.28mm × 50m), carrier gas는 He를 1.0ml/min의 속도로 조절하였으며, split ratio는 100 : 1이었다. 또한 injection 온도는 230°C, 칼럼 온도는 50°C에서 220°C까지 4°C/min으로 승온시켰다. GC-MS는 GC의 조건을 그대로 사용하였으며, ionization electron energy는 70eV, ion source 온도는 240°C로 조절한 Hitachi mode 063-RMU-7M의 Mass spectrometer를 사용하였다.

결과 및 고찰

적포도주의 성분분석

제조 완료한 포도주와 발효 후의 성분함량은 Table 1에서 보는바와 같이 주로 산류의 성분에서 차이를 보였다. 청징 처리 후 tartaric acid는 Cabernet sauvignon 0.12g/100ml, Cabernet franc 0.07g/100ml 및 Malbec 0.08g/100ml 감소하여 각각 0.13g/100ml, 0.15g/100ml 및 0.15g/100ml이었으며, malic acid는 0.01~0.02g/100ml 감소하였다. 또한 총산이 감소하였고, pH가 약간 증가하였는데, 이는 주로 tartaric acid의 감소 때문으로 생각되며, tartaric acid의 변화는 숙성과정중 chilling 과정에서 온도저하에 의한 tartaric acid의 용해도 감소 때문으로 생각된다. 그리고 최종적으로 제조된 포도주에 함유된 성분의 함량은 phenolic compounds의 함량에 있어서 다소 차이를 보였는데, Malbec 품종의 경우 다른 두 품종에 비하여 total phenolics와 phenol flavonoid의 함량이 높게 나타났고, Cabernet franc은 nonflavonoid의 함량이 다른 품종에 비해 높은 함량을 보였는데, 이러한 결과는 포도원료 색소 물질의 조성과 관련이 있는 것으로 생각된다.

고급알콜과 ethyl acetate의 함량

3가지 포도 품종으로 제조된 포도주의 알콜류와 ethyl acetate의 함량은 Table 2와 같다. Methyl alcohol, propanol 및 isoamyl alcohol은 다른 두 품종에 비하여 Cabernet sauvignon 품종으로 제조한 포도주에서, isobutanol은 Malbec 품종의 것에서, ethylacetate는

Table 1. Contents of some chemical components in wines of three varieties of harvested in 1989

Components	Cabernet sauvignon		Cabernet franc		Malbec	
	After fer.	Wine	After fer.	Wine	After fer.	Wine
Alcohol (v/v%)	10.8	10.8	10.8	11.0	11.0	11.0
Total acidity (g/100ml)	0.76	0.69	0.68	0.62	0.71	0.66
pH	3.35	3.36	3.43	3.48	3.40	3.41
Total ester (mg/L)	ND*	86	ND	65	ND	62
Total SO ₂ (mg/L)	ND	64	ND	68	ND	63
Total nitrogen (mg/L)	ND	160	ND	150	ND	128
Malic acid (g/100ml)	0.30	0.28	0.28	0.27	0.32	0.30
Tartaric acid (g/100ml)	0.25	0.13	0.22	0.15	0.23	0.15
Citric acid (g/100ml)	0.02	ND	0.02	ND	0.03	ND
Lactic acid (g/100ml)	0.03	ND	0.05	ND	0.04	ND
Succinic acid (g/100ml)	0.06	ND	0.06	ND	0.05	ND
Total phenolics (mg/L)		310		425		470
Nonflavonoid (mg/L)		175		300		225
Phenol flavonoid (mg/L)		135		125		245

* Not detected

Table 2. Contents of higher alcohols and ethyl acetate in wines from three varieties of harvested in 1989

Varieties	Components (mg/L)						
	Acet	MeOH	PrOH	iBuOH	iAmOH	aAmOH	EtAC
Cabernet sauvignon	26	87	72	40	273	24	23
Cabernet franc	28	83	42	33	237	28	35
Malbec	33	72	32	64	224	22	28

Acet : acetaldehyde, MeOH : methanol, PrOH : propanol, iBuOH : isobutanol, iAmOH : isoamylalcohol, aAmOH : active amy-lalcohol and EtAC : ethyl acetate

Cabernet franc 품종을 이용하여 제조한 것에서 각각의 함량이 많았다. Doudt와 Ough¹⁰⁾는 발효중 ester와 고급 알콜 함량이 효모의 종에 따라 그 생성량과 조성에 차이가 있다고 보고하였으며, Cottrell과 McMellan¹⁵⁾은 발효온도가 낮을수록 ethyl acetate를 많이 함유하고, 품종에 따라서 차이가 있으며, 특히 Chardonnay 품종이 white riesling 등의 품종과 비교해서 2배 정도 높다고 보고하였다. Groat와 Ough¹⁷⁾은 불용성 고형분의 함량이 증가함에 따라 isobutyl alcohol, active amy-lalcohol, isoamylalcohol의 함량이 증가하는 반면 n-propyl alcohol과 휘발성 ester의 함량은 감소하는 것으로 보고하였다. 또한 고급알콜의 생성에는 아미노산이 직접 관여하며, 아미노산과 질소원의 함량도 고급알콜 생성량에 관계하는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾. Ethyl acetate와 고급알콜은 포도의 품종에 따른 구성성분의 종류와 함량에 그 원인이 있는 것으로 생각된다.

휘발성분의 분리 및 동정

3가지 품종을 사용하여 제조한 포도주의 휘발성 물질을 GC로 분석하여 Cabernet sauvignon 91종 (Fig. 1),

Cabernet franc 89종 (Fig. 2) 및 Malbec 87종 (Fig. 3)을 분리하였다. 포도주 제조에 사용된 품종에 따라 휘발성분의 함량이 다소 차이를 보였는데, 이들 중 GC 및 GC-MS로 동정한 것은 terpene-4-ol을 비롯한 35종이었으며, 그 결과는 Table 3에 나타내었다. Junichi와 Masuzumi¹⁹⁾은 dichloromethane 용매로써 포도주의 휘발성분을 추출하여 neutral, acidic, basic 및 phenolic fraction으로 추출하여 약 50여종의 성분을 동정하였으며, 추출된 분획중 중성 분획으로 추출한 추출물이 포도주의 근원적인 향과 대단히 유사하다고 보고하였다. 또한 이들은 Koshu 포도와 Zenkoji 포도 품종으로 제조한 포도주에서 2-methoxy-5-vinylphenol을 발견하였으며, terpene-4-ol과 linalool을 동정하였다. Gunata 등²⁰⁾은 발효중 포도주에 함유된 향기물질의 terpenols와 linalool은 거의 변하지 않지만 geraniol은 상당히 감소한다고 보고하였다.

따라서 아직 휘발성분의 동정이 완벽하게 이루어지지 않아서 동정된 성분과 조성만으로 3가지 품종간의 특성을 구별하기는 어려우며, 미확인된 성분의 동정을 위한 연구가 더욱 진행되어야 할 것으로 생각된다.

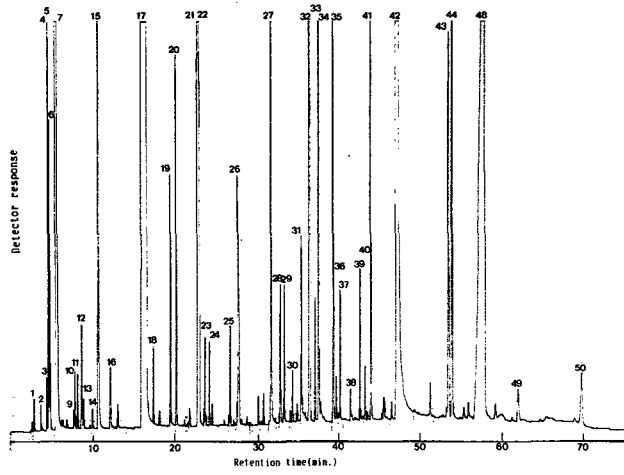


Fig. 1. Gas chromatogram of volatile concentrates from Cabernet sauvignon wine.

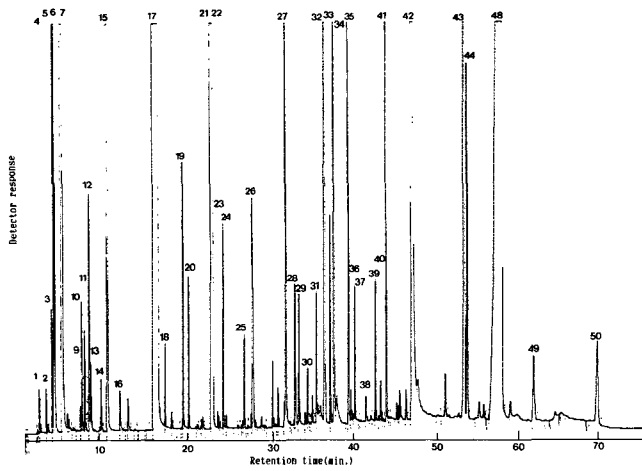


Fig. 2. Gas chromatogram of volatile concentrates from Cabernet franc wine.

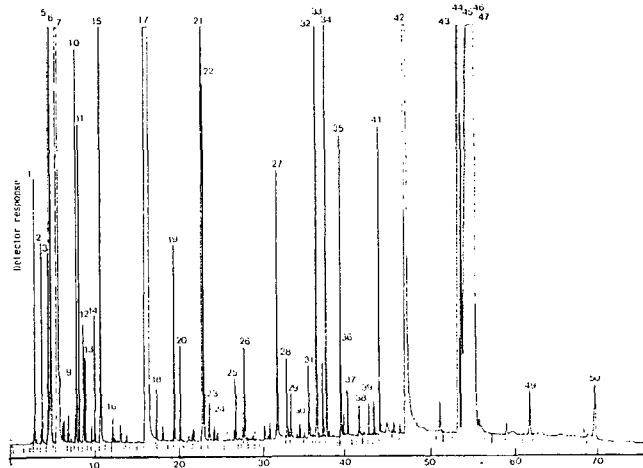


Fig. 3. Gas chromatogram of volatile concentrates from Malbec wine.

Table 3. Volatile compounds identified in wines with three varieties of harvested in 1989

Peak no.	Volatile compounds	Cabernet sauvignon	Cabernet franc	Malbec	Evidences	
1*	Acetaldehyde	***	+	+	MS	tR
2	Ethyl formate	+	+	+	MS	tR
3	Unknown	+	+	+		
4	Ethyl acetate	+	+	+	MS	tR
5	Methyl alcohol	+	+	+	MS	tR
6	Unknown	+	+	+		
7	Ethanol	+	+	+	MS	tR
8	Dichloromethane***	+	+	+	MS	tR
9	2-Methyl propyl acetate	+	+	+	MS	tR
10	1-Propanol	+	+	+	MS	tR
11	Ethyl butylate	+	+	+	MS	tR
12	Isopropyl acetate	+	+	+	MS	tR
13	Unknown	+	+	+		
14	Unknown	+	+	+		
15	Isobutyl alcohol	+	+	+	MS	tR
16	3-Methyl butyl acetate	+	+	+	MS	tR
17	Isoamyl alcohol	+	+	+	MS	tR
18	1-Butanol	+	+	+	MS	tR
19	Ethyl hexanoate	+	+	+	MS	tR
20	Unknown	+	+	+		
21	Ethyl lactate	+	+	+	MS	tR
22	1-Hexanol	+	+	+	MS	tR
23	trans-3-Hexanol	+	+	+	MS	tR
24	3-Ethoxy-1-propanol	+	+	+	MS	tR
25	cis-3-Hexanol	+	+	+	MS	tR
26	Acetic acid	+	+	+	MS	tR
27	2-Fufural	+	+	+	MS	tR
28	2,3-Butanediol (levo)	+	+	+	MS	tR
29	Unknown	+	+	+		
30	2,3-Butanediol (meso)	+	+	+	MS	tR
31	Terpine-4-ol	+	+	+	MS	tR
32	Butylic acid	+	+	+	MS	tR
33	Ethyl dicanoate	+	+	+	MS	tR
34	3-Methyl butyric acid	+	+	+	MS	tR
35	Diethyl succinate	+	+	+	MS	tR
36	Unknown	+	+	+		
37	Unknown	+	+	+		
38	Unknown	+	+	+		
39	Unknown	+	+	+		
40	Unknown	+	+	+		
41	2-Hexanoic acid	+	+	+	MS	tR
42	2-Phenyl ethanol	+	+	+	MS	tR
43	Diethyl malate	+	+	+	MS	tR
44	Octanoic acid	+	+	+	MS	tR
45	Unknown	-****	-	+		
46	Unknown	-	-	+		
47	Unknown	-	-	+		
48	Unknown	+	+	-		
49	Decanoic acid	+	+	+	MS	tR
50	Mono ethyl succinate	+	+	+	MS	tR

* Number of peaks are equal to the labeled number in Figs. 1, 2 and 3

** Detected

*** Solvent for extraction of volatile compounds

**** Not detected

요 약

Vitis vinifera 적포도주의 화학성분, 고급 알콜, esters 및 휘발성분 등을 측정하기 위하여 HPLC, GC 및 GC-MS 등의 기기를 이용하였다. 포도주의 저장 숙성중에는 산류의 변화가 많았는데, 특히 tartaric acid가 현저히 감소하였다. Total phenolics와 phenol flavonoid의 함량은 Malbec 품종으로 제조한 포도주가 각각 470mg/L과 245mg/L로서 Cabernet sauvignon(310mg/L, 135mg/L)과 Cabernet franc(425mg/L, 125mg/L) 포도주보다 많았고, nonfalvonoid의 함량은 Cabernet franc 포도주가 300mg/L로서 Malbec(225mg/L)과 Cabernet sauvignon(175mg/L) 포도주보다 많았다. Acetaldehyde 함량은 Cabernet sauvignon(26mg/L)과 Cabernet franc(28mg/L)에 비하여 Malbec(33mg/L) 포도주에서 많았다. Methyl alcohol, propanol 및 isoamyl alcohol은 다른 두 포도주에 비하여 Cabernet sauvignon 포도주에서 많았고, isobutanol은 Malbec 포도주가 64mg/L이었으며, ethylacetate는 Cabernet franc 포도주가 35mg/L로서 Malbec(28mg/L)과 Cabernet sauvignon(23mg/L) 보다 많았다. 세품종(Cabernet sauvignon, Cabernet franc, 및 Malbec)의 포도주 농축물로부터 GC를 이용하여 87~91여종의 휘발성분을 분리하였고, 그 중 terpene-4-ol을 비롯한 35종을 GC-MS를 사용하여 동정하였다.

문 헌

1. Amerine, M. A. and Singleton, V. L. : *Wine. History of the grape and wine.* University of California Press, p.1 (1976)
2. Amerine, M. A. and Joslyn, M. A. : *Table wines.* University of California Press, p.494 (1970)
3. Amerine, M. A., Berg, H. W., Kunkee, R. E., Ough, C. S. and Sigaletone, V. L. : *The technology of wine making.* AVI Publishing Co. Inc., p.229 (1980)
4. 공성재, 홍순범, 이동균 : 양조용 포도품종에 관한 조사. 농사시험연구보고, 5, 29(1972)
5. 김유환, 이종석 : 과일주 생산 및 적포도 생산에 관한 연구. 농촌진흥청 원예시험장 시험연구보고서, p. 224 (1980)
6. 박연희 : 국내산 포도주를 생산하기 위한 포도품종 선택 및 최적 효모균주 선발에 관한 연구. 한국농화학회지, 18, 219 (1975)
7. 유진영, 석호문, 신동화, 민병용 : 한국산 포도를 이용한 포도주 발효 및 품질평가시험. 산업미생물학회지, 12, 185 (1984)
8. 박계인, 나상식, 유영진, 홍승철 : 포도주 제조에 관한 연구. 국립공업시험원, 19, 107 (1969)
9. Kepner, R. E., Webb, A. D. and Linda, M. : Some volatile components of wines of *Vitis vinifera* varieties Cabernet sauvignon and Ruby cabernet. II. Acidic compounds. *Am. J. Enol. Vitic.*, 20, 25 (1969)
10. Schreier, P. and Paroschy, J. H. : Volatile constituents from Concord, Niagara (*Vitis labrusca* L.) and Elvira grapes. *Food Sci. Technol. J.*, 14 (2), 112 (1981)
11. Junichi, S. and Masuzumi, W. : Investigation of volatile components in wines from Koshu and Zenkoji grape. *Agric. Biol. Chem.*, 46, 2353 (1982)
12. Gunata, Z., Bayonove, C. L., Baumes, R. L. and Cordonnier, R. E. : Stability of free and bound fractions of some aroma components of grapes C. V. Muscat during the wine processing preliminary results. *A. J. E. V.*, 37, 112 (1986)
13. 이용수, 최진상, 심기환, 조용학, 김전기 : *Vitis vinifera* 적포도의 성숙중 화학성분의 변화. 한국영양식량학회지, 22, 196 (1993)
14. Martin, G. E., Burggraff, J. M., Dyer, R. H. and Busemi, P. C. : Gas-liquid chromatographic determination of congener in alcoholic production with confirmation by gas chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 64, 186 (1981)
15. Cottrell, T. H. F. and McMellan, M. R. : The effect of fermentation temperature on chemical and sensory characteristics of wines from seven white grape cultivars grown in New York state. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37 (3), 190 (1986)
16. Daudt, C. E. and Ough, C. S. : Variations in some volatile acetate esters formed during grape juice fermentation effects of fermentation temperature, SO₂, yeast strain and grape variety. *A. J. E. V.*, 24, 130 (1973)
17. Groat, M. and Ough, C. S. : Effects of insoluble solids added to clarified musts on fermentation rate wine composition and wine quality. *A. J. E. V.*, 29, 112 (1978)
18. Kliewer, W. M. : Free amino acids and other nitrogenous fraction in wine grapes. *J. Food Sci.*, 35, 17 (1970)

(1992년 11월 17일 접수)