

기체크로마토그래피 및 질량분석법에 의한 민속 소주종의 알코올 동족체 분석

李東宣* · 朴惠靚 · 金 建 · 李澤守† · 盧奉洙†

서울여자대학교 화학과

† 서울여자대학교 식품과학과

(1994. 5. 3 접수)

Gas Chromatographic and Mass Spectrometric Determination of Alcohol Homologues in the Korean Folk Sojues (Distilled Liquor)

Dong-Sun Lee*, Hye-Seong Park, Kun Kim, Taik-Soo Lee†, and Bong-Soo Noh†

Department of Chemistry, Seoul Woman's University, Seoul 139-774, Korea

† Department of Food Science, Seoul Woman's University, Seoul 139-774, Korea

(Received May 3, 1994)

요 약. 전통 민속소주의 향기성분의 실체를 규명할 목적으로 안동소주, 문배술, 이강주, 진도홍주 중에 존재하는 알코올 동족체인 퓨젤유 성분을 GC-FID-MS로 분석하여 중국산 카오량쥬인 Moutaichiew, Ergoutou 등과 비교하였다. 다공성 중합체인 Porapak Q를 이용한 고체상 추출법과 수증기 증류법, 용매추출법 등의 시료전처리 방법을 비교 실험하고 분석조건에 따른 알코올 동족체의 용리거동을 검토하였다. 컬럼온도, 분온도 변화와 분자량, 끓는점, 용량계수 사이에는 직선적 상관성을 나타내었다. 알코올 동족체의 탄소수가 증가할수록 머무름시간, 분자량, 끓는점, 용량계수의 log값들은 직선적으로 증가하였다. 알코올 동족체의 유전상수가 클수록 머무름 시간은 짧아지고 용량계수는 작아지는 경향을 나타내었으나 탄소수 4개의 *sec*-butyl alcohol은 유전상수가 작음에도 불구하고 탄소수 3개인 *n*-propyl alcohol보다 머무름시간이 짧았다. Ethyl alcohol 이외에 methyl alcohol, *n*-propyl alcohol, isobutyl alcohol, isopentyl alcohol, phenethyl alcohol 등이 검출되었다. 중국산 고량주에는 *n*-propyl alcohol 함량이 상대적으로 많은데 비하여 우리나라 소주에는 isopentyl alcohol의 함량이 높았다. 관능검사보다 객관적인 함량형태 인식을 위하여 다변량통계해석법(주성분분석)을 사용하여 고찰한 결과 우리나라 민속소주는 중국산 고량주와는 완전히 다른 형태를 보여주었다.

ABSTRACT. This work is undertaken to determine alcohol homologues so-called fusel oil that may be present in the Korean folk sojues (distilled liquor) made from grains and to describe sample preparation and analytical method by GC-FID-MS. Solid phase extraction method for sample preparation by using porous styrene divinyl benzene polymer (Porapak Q) was compared with steam distillation and solvent extraction method. Retention behaviors of homologous series of alcohols were also studied. Log values of retention time, molecular weight, boiling point, and capacity factor of alcohols showed linear correlations to the carbon number of an alcohol, to the oven temperature, and to the dielectric constant. Components such as methyl alcohol, *n*-propyl alcohol, isobutyl alcohol, isopentyl alcohol, and phenethyl alcohol have been identified. The more amount of isopentyl alcohol than other alcohols are contained in the Korean folk sojues, while that of *n*-propyl alcohol are contained in Chinese kaoliangchiew. Degree of similarity or dissimilarity and classification of the individual samples were discussed using multivariate statistical analysis(principal components analysis) based on GC data.

서 론

본 연구의 목적은 전통 민속소주속에 존재하는 알코올 동족체 성분들을 동시분석하는 방법을 검토하여 민속소주의 품질 특성을 객관적으로 평가하고 과학적 품질관리, 제조방법의 개선, 안전성, 법화학적 정보 등의 기본 자료를 제시하는데 있다. 알코올 발효시 부산물로 생성되는 알코올 동족체는 이른 바 fusel oil이라 알려져 있으며 맛과 향을 좌우한다는 점에서 뿐만 아니라 제조방법과 저장법의 개선 및 품질관리상 매우 중요한 지표이다. 전통 민속소주의 성분분석자료가 품질개선, 식품위생, 독성학, 법화학 등 여러 분야에 걸쳐 매우 중요한 정보임에도 불구하고 이에 관한 연구는 아직 미개척 분야로 남아 있었다.

우리 민족은 탁주, 약주, 소주, 기타 과일주와 약용주를 오랜 세월 동안 즐겨왔으며 그 중에서 소주는 아라비아 지방에서 발생되어 몽골을 거쳐 고려 말엽에 우리나라에 전래되어 토착화 되었다는 것이 통설이다^{1,2}. 이러한 우리 나라 소주의 역사는 서양의 주류 역사와 비교해 볼 때 매우 오랜 전통을 지닌 것이라 할 수 있으며 한국 고유 식품의 하나로 소개할 수 있는 특징을 지니고 있다. 소주는 쌀 또는 다른 곡류와 누룩으로 빚어 발효시킨 뒤 토고리로 증류시킨 증류주이기 때문에 제조 원료나 방법의 차이에 따라 휘발성 성분의 종류와 함량이 서로 달라서 맛과 향기가 차별화된다^{3,4}. 그러나 주세법과 양곡정책의 일환으로 곡류의 양조가 금지된 이래 거의 자취를 감추어 가고 있는 상황에서 민속문화재 보호차원하에 민속주의 발굴보호가 실시되어 오고 있다^{5,6}. 농수산물과 식품시장의 개방에 따라 주류제품의 경우에도 외국산이 범람하고 있으며 우리나라 고유식품의 보호육성과 품질향상이 시급한 실정이다.

알코올 분석법으로는 증류 후 비중측정법⁷, 굴절률 측정법⁸, pot. dichromate를 사용해서 ethanol을 acetic acid로 산화시킨 후 ammonium ferrous sulfate로 역적정하는 방법⁹, GC¹⁰, 1,8-dihydroxy naphthalene-3,6-disulfonic acid에 의한 colorimetric method⁸, *p*-dimethyl aminobenzaldehyde에 의한 spectrometry¹¹, IR spectrometry¹² 등이 있다. 그 밖에

전기 전도도 검출기를 이용한 HPLC¹³, 형광 유도 체화에 의한 HPLC^{14,15}, 효소센서를 이용하는 방법¹⁶, flow injection analysis^{17,18} 등이 보고되었다. 위스키 또는 와인중의 알코올 분리 정량에는 GC가 가장 많이 적용되고 있으나^{19~21} 알코올의 휘발성이 너무 크기 때문에 전처리 과정에서 시료손실이 많아 정확도와 재현성이 문제가 된다. 또한 탄소 수가 적은 것부터 많은 것까지 다양한 기질 영향으로 인하여 끓는점이 비슷한 것들은 상호분리가 쉽지 않고 질량분석법 없이 확인동정이 어렵다.

본 연구에서는 GC-FID-MS에 의한 알코올 동족체 분석법을 검토하고 국내에선 처음으로 전통 민속소주중의 향기성분의 실체를 규명하고 중국산 수입 카오량유와 비교하였다. 또한 GC 분석자료를 다변량 통계해석학 기법의 하나인 주성분분석(principal components analysis; PCA)^{22,23}으로 처리하여 증류주 상호간의 유사성과 이질성을 고찰하였다.

실험방법

재료 및 시약. 실험에 사용한 안동소주(安東燒酒: alcohol 함량 45%)는 기증받은 것이고, 문배술(alcohol 함량 40%), 전주 이강주(梨薑酒: alcohol 함량 25%), 진도 홍주(紅酒: alcohol 함량 40~45%), Moutaichiew(貴州茅台酒: alcohol 함량 53%), Ergoutoutiu(二鍋頭酒: alcohol 함량 56%)는 시판품을 사용하였다. 각종 알코올 동족체 시약과 diethyl ether, sodium sulfate anhydrous는 chromatographic grade 혹은 analytical grade(순도 99.9%)의 Merck 제품을 표준품으로 이용하였다.

모든 물은 증류수를 탈이온화시킨 다음 E-pure system(Barnstead)으로 정제한 것만을 사용하였으며 이 물의 비전도도는 $18 \mu\text{S cm}^{-1}$ 이다.

Gas Chromatography와 GC-MS. 기체크로마토그래프는 HP 5890 Series II(Hewlett Packard) 또는 GC-14B(Shimadzu)를 사용하였고 FID로 검출하여 HP 3396A integrator(Hewlett Packard) 또는 C-R6 A chromatopac integrator(Shimadzu)로 기록하였다. 분석관은 polyethyleneglycol(PEG) WCOT fused silica 모세관컬럼(Shimadzu, CBP-20, 0.22 mm i.d. × 25 m, 0.25 μm thickness)을 사용하였으며 나머지

Table 1. Operating conditions of GC-FID and GC-MS

GC Method	Hewlett Packard 5890 Series II (A)	(B)	Shimadzu GC-14B (C)
Column	PEG fused silica capillary (HP-20M) (Hewlett Packard)	10% PEG on whp 100/120 packed	PEG fused silica capillary (CBP 20) (Shimadzu)
Length	25 m	6 ft	25 m
I.D./O.D.	0.32 mm	2 mm/1/8 inch	0.22 mm
Film thickness	0.2 μ m		0.25 μ m
Temp. (°C)			
Injector	190	190	210
Detector (FID)	195	195	210
Oven Program			
Initial temp. (°C)	70	70	40
Initial time (min)	1.0	1.0	5.0
Rate (°C/min)	5.0	5.0	8.0
Final temp. (°C)	170	170	200
Final time (min)	10.0	10.0	5.0
Carrier gas (N ₂)			
Flow rate (N ₂)	2.5 ml/min	20 ml/min	1.5 ml/min
Hydrogen	30 ml/min		35 ml/min
Air	300 ml/min		450 ml/min
Split ratio	1 : 100		1 : 67
Sample size	0.1 μ l	0.1 μ l	0.1 μ l

GC-MS QP2000A with GC 14A (Shimadzu)

Column: PEG fused silica capillary (CBP 20) 0.22 mm *i.d.* × 25 m, 0.25 μ m film thickness

Oven program: initially 40°C for 5 min, increased to 200°C at 8°C/min and held for 15 min

Injector and ion source temperature: 210°C

EI ionization voltage: 70 eV

Carrier gas: He (2.0 ml/min)

Split ratio: 1 : 100

Sample size: 0.1 μ l

Vacuum pump: Rotary vane pump V-009-2 (Stokes)

NIST library

분석조건은 Table 1과 같다.

12종의 alcohol 동족체 표준물질을 각각 0.10 g씩 취해서 잘 혼합한 표준용액을 조제하여 그 중 0.10 μ l를 GC에 주입하여 전처리를 하지 않은 표준물질의 크로마토그램을 얻었다.

크로마토그램을 얻은 후 각 피이크들의 확인 동정을 위하여 같은 시료를 GC-14A/GC-MS QP2000 A(Shimadzu)에 주입하여 전체 이온 크로마토그램(TIC)을 구한 다음 각 피이크 마다의 질량 스펙트럼을 얻고 이것을 NIST library와 비교하였다.

수증기 증류법. 12종의 알코올 동족체 표준물질

을 각각 0.10 g(ethanol 40.0 g)씩 취해 잘 섞어서 20 ml 부피플라스크에 넣고 초순수로 표선까지 희석하여 1시간 가량 수증기 증류한 다음 증류액에 sodium sulfate anhydrous를 가하여 수분을 제거하였다. 이 중 0.10 μ l를 GC에 주입하여 표준물질의 크로마토그램을 얻고 회수율을 구하였다. 그리고 소주의 경우에는 20 ml 부피플라스크에 *n*-butyl alcohol 0.020 g을 내부 표준물질로(Moutaichiew는 *n*-butyl alcohol을 함유하므로 1-octanol을 내부 표준물질로 한다) 가하고 소주로 표선까지 희석한 후 수증기 증류한 다음 위와 같은 방법으로 수분을 제거하여 0.20

μl 를 GC에 주입하여 크로마토그램을 구하고 피이크 면적으로부터 정량하였고, GC-MS로 동정하였다.

용매 추출법. 같은 방법으로 표준물질을 조제하여 이 중 10 ml를 diethyl ether 5 ml로 2회 추출하여 이 추출액 0.10 μl 를 GC에 주입하여 표준물질의 크로마토그램을 얻어 회수율을 구하였다.

n-Butyl alcohol 0.010 g을 내부 표준물질로 가한 소주시료 10 ml를 diethyl ether 5 ml로 2회 추출한 후, 추출액의 0.20 μl 를 GC에 주입하여 크로마토그램을 구하여 정량하고 GC-MS로 동정하였다.

다공성 중합체를 이용한 고체상 추출 및 농축법. 세척 건조한 경질유리 컬럼(*i.d.* 2.0×10.0 cm, 80 mesh frit)에 다공성 중합체인 polydivinyl benzene (Porapak-Q, 50~80 mesh, Waters) 2.0 g을 충전하여 초순수로 습윤시킨 다음 여기에 조제한 알코올 표준물질 30 ml를 흘려서 다공성 중합체에 흡착시켰다. 초순수 10 ml로 씻은 후 diethyl ether 30 ml로 추출하였다. 이때 바늘을 메어낸 주사기통(barrel)을 연결하여 밀대(plunger)를 몇 회 전후로 밀고 당겨 추출 효율을 높였다. 추출액을 테프론 마개의 유리 병에 모아서 수용성인 하층은 스포이드 피펫으로 제거하고, 상층액을 sodium sulfate anhydrous로 수분을 제거하여 시험관으로 옮기어 여기에 테프론 마개의 Pasteur 피펫을 꽂고 시험관 입구를 테프론 테이프로 막았다. 모래 욕상(43~45°C 유지)에서 300 μl 가 될 때까지 농축하여, 이 농축액 0.10 μl 를 GC에 주입하여 크로마토그램을 얻고 회수율을 구하였다.

n-Butyl alcohol 0.020 g을 내부 표준물질로 가한 소주 30 ml를 같은 방법으로 다공성 중합체 컬럼에 통과시켜 추출·농축하여 이 농축액 0.10 μl 를 GC에 주입하여 크로마토그램을 구하여 정량하고 GC-MS로 동정하였다.

주성분 분석(PCA). GC에 의해 구한 알코올 동족체 정량분석 자료를 본 연구실에서 FORTRAN으로 작성한 VAR 프로그램에 입력하여 분산공분산행렬, 고유값(eigenvalue), 고유값 벡터(eigenvector)를 계산하고 이로부터 제 1주성분식과 제 2주성분식을 얻었다. 주성분식으로부터 제 1주성분점수(PC-1)와 제 2주성분점수(PC-2)를 각 증류주별로 계산하였다.

결과 및 고찰

분석조건에 따른 알코올 동족체의 GC 용리거동.

PEG를 정지상으로 한 WCOT 모세관 컬럼과 충전 컬럼을 사용해서 Table 1의 A, B, C 방법의 각 조건에서의 알코올 동족체의 용리 거동을 비교한 결과 이론단수(*N*), 이론단 해당높이(*H*), 분리도(α), 용량 계수(*k'*)는 Table 2와 같다. 방법 A, B의 파라미터를 비교해 보면 값은 비슷하나 *k'* 범위 및 컬럼 효율의 지표인 *N*과 *H*값은 모세관 컬럼을 사용한 A가 더 양호하였고 크로마토그램의 봉우리 나비가 좁고 일정하면서 분석소요시간도 짧았다. 그러나 머무름 시간이 짧은 앞쪽의 methyl alcohol, ethyl alcohol, *sec*-butyl alcohol, *n*-propyl alcohol의 *k'* 및 α 값을 개선하려면 모세관 컬럼의 온도 조건을 조정할 필요가 있었다.

실험에 사용한 12종의 알코올 동족체의 끓는점은 32.04°C에서 219°C까지 넓은 범위로 분포하므로 승온법이 더 적절하다고 판단되어 초기온도를 40°C로 하여 5분간 유지한 뒤 8°C/min로 승온시켜, 최종온도 200°C로 5분간 유지시킨 방법 C의 크로마토그램은 Fig. 1과 같다. 방법 C가 초기온도를 70°C로 하여 1분간 유지한 다음 승온단위를 5°C/min, 최종온도 170°C로 한 방법 A보다 *k'*값이 더 이상적인 범위에 있고 *H*값은 매우 작아지면서, 분리는 양호하고 전체 분석 소요시간은 약 28 min으로 거의 비슷함을 알았다. Table 1의 방법 A, B, C 조건에서의 오븐 온도 변화에 따른 분자량, 끓는점, *k'*의 상관성은 Fig. 2와 같이 방법 C가 더 양호한 직선성을 나타내었다. 특히 ethyl alcohol의 함량이 많은 증류주의 경우 methyl alcohol(bp. 32.04°C)의 봉우리가 ethyl alcohol(bp. 46.06°C)의 봉우리속에 감춰질 우려가 있는데 초기 온도를 낮게 하고 초기온도 유지시간을 약간 길게 해주면 *k'*값이 월등히 개선됨을 알 수 있었다. 오븐 온도와 머무름시간(*t_R*) 사이의 관계는 식 (1)로 표현할 수 있었다.

$$\log t_R = (a/T) + b \quad (1)$$

여기서 *T*는 켈빈온도이고 *a*, *b*는 실험적 상수이다.

선형 사슬(straight chain)의 알코올 동족체의 탄소수(*N_C*)가 증가할수록 *t_R*, 분자량, 끓는점의 log값들도 직선적으로 증가하였고(Fig. 3), *N_C*에 대한 log *k'*값도

Table 2. The gas chromatographic parameters for the determination of alcohols

Alcohols	A				
	t_R (min)	N	H($\times 10^{-3}$ m)	α	k'
1. Methyl alcohol	1.996	14634	1.708		0.597
2. Ethyl alcohol	2.084	6679	3.743	1.12	0.667
3. <i>sec</i> -Butyl alcohol	2.596	8013	3.120	1.61	1.077
4. <i>n</i> -Propyl alcohol	2.670	5657	4.419	1.05	1.136
5. Isobutyl alcohol	2.984	12680	1.972	1.22	1.387
6. <i>n</i> -Butyl alcohol	3.585	11452	2.183	1.35	1.868
7. Isopentyl alcohol	4.341	4982	5.018	1.32	2.473
8. <i>n</i> -Pentyl alcohol	4.992	7159	3.492	1.60	2.994
9. <i>n</i> -Hexyl alcohol	6.920	15830	1.579	1.52	4.536
10. <i>n</i> -Heptyl alcohol	9.155	22525	1.110	1.39	6.324
11. 1,3-Butylene glycol	16.002	57043	0.438	1.87	11.802
12. Phenethyl alcohol	19.543	96228	0.259	1.24	14.634

Alcohols	B				
	t_R (min)	N	H($\times 10^{-3}$ m)	α	k'
1. Methyl alcohol	2.190	1615	15.5		0.752
2. Ethyl alcohol	2.550	1516	16.5	1.30	1.040
3. <i>sec</i> -Butyl alcohol	3.773	2947	8.483	1.79	2.018
4. <i>n</i> -Propyl alcohol	4.034	3054	8.186	1.09	2.227
5. Isobutyl alcohol	4.969	3763	6.644	1.31	2.975
6. <i>n</i> -Butyl alcohol	6.136	5032	4.968	1.29	3.909
7. Isopentyl alcohol	7.582	5986	4.176	1.28	5.066
8. <i>n</i> -Pentyl alcohol	8.646	8196	3.050	1.16	5.917
9. <i>n</i> -Hexyl alcohol	11.234	12130	2.061	1.34	7.987
10. <i>n</i> -Heptyl alcohol	13.835	16876	1.481	1.25	10.068
11. 1,3-Butylene glycol	21.276	13226	1.890	1.58	16.021
12. Phenethyl alcohol	25.827	16199	1.543	1.22	19.662

Table 2. Continud

Alcohols	C				
	t_R (min)	N	H($\times 10^{-3}$ m)	α	k'
1. Methyl alcohol	6.258	62660	3.99		2.129
2. Ethyl alcohol	7.058	79705	3.14	1.19	2.529
3. <i>sec</i> -Butyl alcohol	9.265	137344	1.82	1.44	3.632
4. <i>n</i> -Propyl alcohol	9.657	149212	1.68	1.05	3.828
5. Isobutyl alcohol	11.042	195081	1.28	1.18	4.521
6. <i>n</i> -Butyl alcohol	12.470	248801	1.00	1.16	5.235
7. Isopentyl alcohol	14.072	316834	0.79	1.15	6.036
8. <i>n</i> -Pentyl alcohol	15.113	365444	0.68	1.09	6.556
9. <i>n</i> -Hexyl alcohol	17.410	484973	0.52	1.18	7.705
10. <i>n</i> -Heptyl alcohol	19.503	608597	0.41	1.14	8.752
11. 1,3-Butylene glycol	24.998	999840	0.25	1.31	11.212
12. Phenethyl alcohol	27.973	1251981	0.20	1.13	12.986

직선성을 나타내었다(Fig. 4).

그러나 탄소수 4개의 *sec*-butyl alcohol(bp. 99.5°C)은 분자량이 더 작고 끓는점이 더 낮은 탄소수 3개의 *n*-propyl alcohol(bp. 98°C)보다 앞서 분리되었다. 정지상인 PEG는 McReynold 상수($X'=322$, $Y'=536$, $Z'=368$, $H'=572$, $S'=510$, $\Sigma=2308$)가 비교적 큰 극성물질이기 때문에 PEG에 대한 친화성이 크다는 것은 탄소수 3개의 *n*-propyl alcohol이 탄소수 4개의 *sec*-butyl alcohol보다 정지상에 대한 상호작용이 더 크다는 것을 의미한다. 극성의 크기는 유전상수(ϵ)의 크기로 설명할 수 있는데 Fig. 5와 같이 ϵ 이 큰 알코올일수록 t_R 이 짧은 경향을 나타냈지만 *sec*-butyl alcohol은 $\epsilon=15.8(25^\circ\text{C})$ 로서 *n*-propyl alcohol의 $\epsilon=20.1(25^\circ\text{C})$ 보다 ϵ 이 작음에도 불구하고 빨리 용출되었다. 그러므로 선형 사슬 말단의 hydroxyl기가 가지 사슬(side chain)에 결합된 hydroxyl기보다 PEG 정지상에 대한 상호작용이 더 강하며 상호작용의 세기가 유전상수의 세기보다 용리에 미

치는 영향이 더 크다고 해석된다.

sec-Butyl alcohol의 이성질체들인 isobutyl alcohol과 *n*-butyl alcohol은 끓는점이 낮은 순서대로 먼저 분리되었다. 이들 이성질체들은 탄소사슬이 길어질수록 t_R 이 더 길었으며, isopentyl alcohol과 1-pentanol 사이에서도 마찬가지로 결과가 나타났다. Aromatic alcohol인 phenethyl alcohol이 가장 뒤늦게 용리되었다. 탄소수가 4개인 1,3-butylene glycol의 t_R 은 매우 길었는데, 이것은 PEG와 친화성이 강하고 점성도가 큰 glycol이기 때문이라 생각된다. Fig. 6과 같이 점성도가 클수록 t_R 이 길었으나 점성도가 39.1 mP인 isobutyl alcohol은 점성도가 22.7 mP인 *n*-butyl alcohol보다 먼저 용출되었다. 따라서 용리에 미치는 영향은 점성도보다 끓는점이 더 크다고 판단된다.

알코올 분리용 정지상으로 과거에는 dinonyl phthalate가 많이 쓰였으나 분리관 최고 온도가 175°C로 낮기 때문에 소주에 존재하는 phenethyl alco-

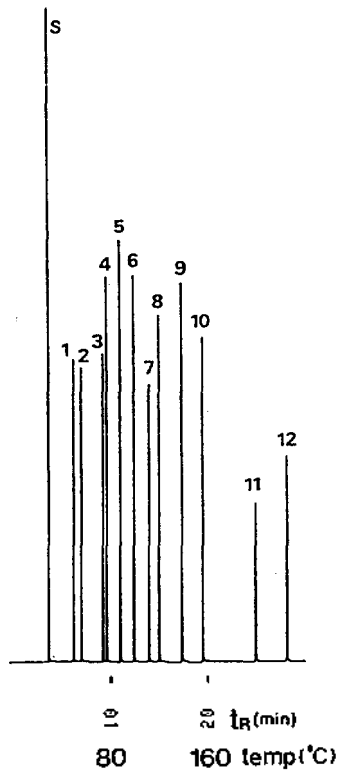


Fig. 1. Gas chromatographic profiles of standard alcohols: separation column: PEG WCOT fused silica capillary (25 m×0.22 mm *i.d.*, 0.25 μ m film thickness); oven program: 40°C (5 min)-8°C/min-200°C (5min); injector: 210°C; FID: 210°C; carrier: nitrogen (1.5 ml/min); split ratio: 1:67; sample size: 0.1 μ l. Numerical letter from Table 2.

hol(끓는점 219°C)을 단시간내에 분리검출하는에는 부적당하다. Martin¹⁹ 등은 알코올 음료중의 congeners 분석을 위하여 carbon graphite(80~120 mesh)에 PEG(5%)를 입힌 유리관 충전컬럼을 사용한 바 있으며 최근에는 PEG 모세관 컬럼이 알코올 분석에 많이 이용되고 있다. 본 실험 결과 PEG WCOT 모

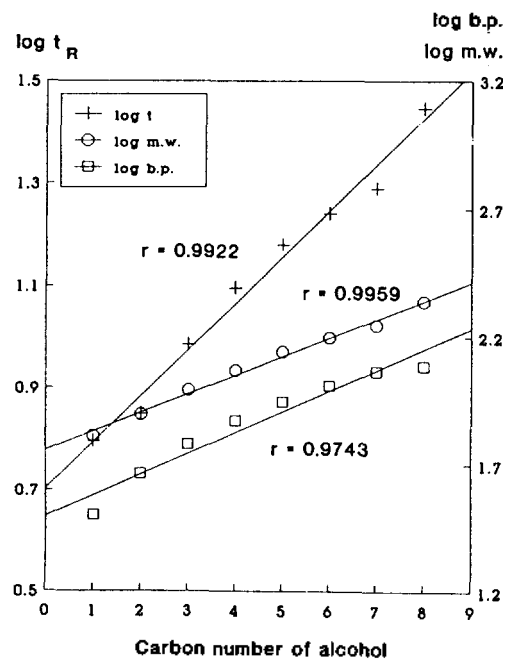


Fig. 3. Plot of $\log t_R$, $\log bp$, and $\log m.w.$ versus carbon number of alcohols.

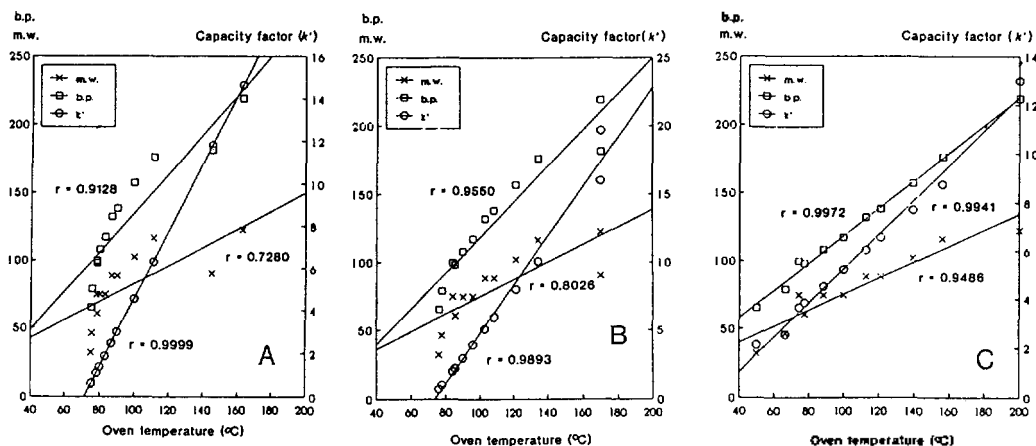


Fig. 2. Oven temperature dependence of boiling point, molecular weight, and capacity factor of alcohols by different methods. A, B, C letter from Table 1.

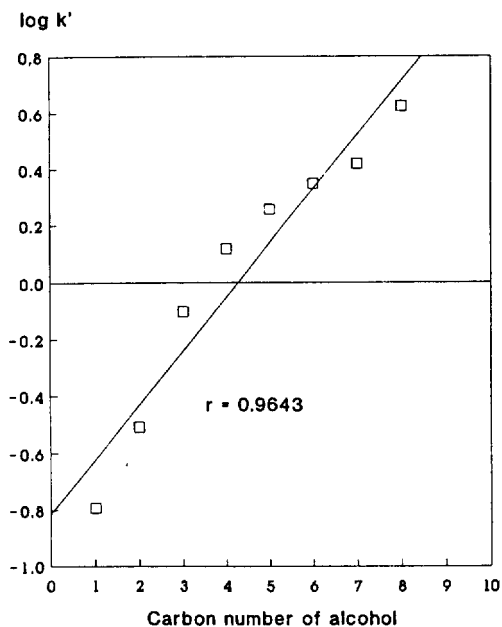
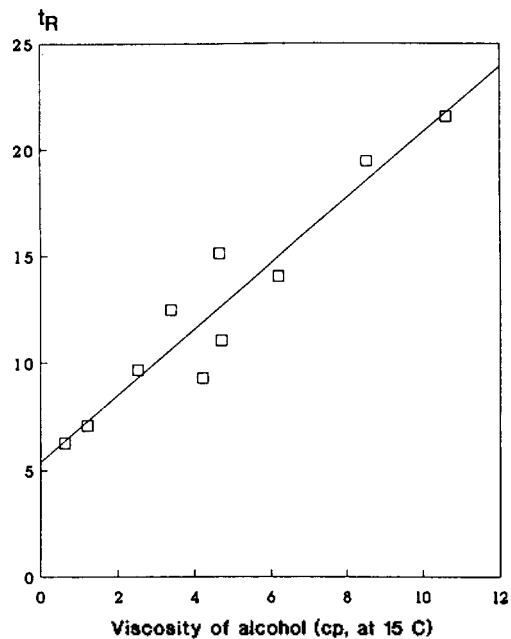
Fig. 4. Plot of $\log k'$ versus carbon number of alcohols.

Fig. 6. Effect of viscosity of alcohol on retention time for the separation of alcohol homologues.

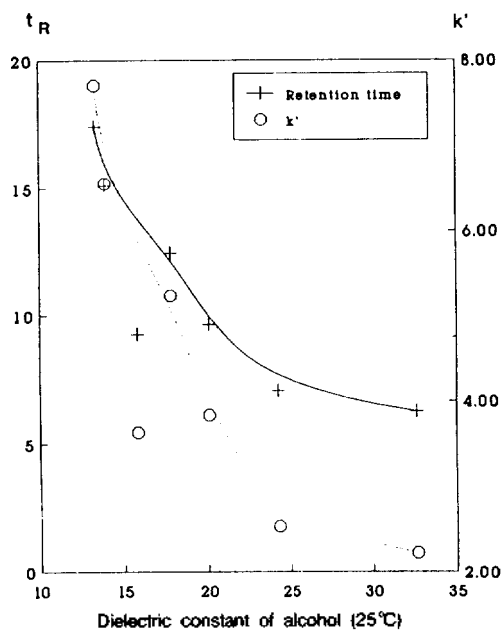


Fig. 5. Effect of dielectric constant of alcohol on retention time and capacity factor for the separation of alcohol homologues.

세관 컬럼은 소주중의 알코올 동족체 분리에 적당한 함을 확인할 수 있었다.

전처리 방법의 회수율, 정량한계, 재현성. 전처리 방법에 따른 회수율과 정량한계 및 재현성은 Table 3과 같다. 수증기 증류법의 경우 methyl alcohol과 phenethyl alcohol의 회수율이 낮는데, 이것은 bp가 낮은 methyl alcohol이 약 1시간의 증류과정과 수분 제거과정에서 손실이 많고, phenethyl alcohol은 끓는점이 219°C로 높아서 수증기 증류가 어려운 것으로 해석된다. 그리고 다공성 중합체를 이용한 추출 및 농축법의 회수율은 대개의 alcohol들이 90% 정도의 값을 나타냈는데, 끓는점이 낮은 methyl alcohol, ethyl alcohol은 45°C에서의 6~8시간의 농축 과정에서 용매인 ethyl ether와 함께 휘발되어서 회수율이 낮았다.

한편 정량한계는 수증기 증류법과 용매추출법이 각각 0.1 µg/ml, 1 µg/ml인데 비하여 고체상추출법의 정량한계는 3 ng/ml였다.

위의 결과에서 보면 1 mg/ml 정도의 분석시는 회수율에 있어서 용매 추출법과 다공성 중합체를 이용한 추출 및 농축법이 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 1 µg/ml 이하를 분석하기 위해서는 용매추출법으로는 분석이 곤란하였고, 다공성 중합체를 이

Table 3. Recovery, reproducibility and accuracy of alcohols by different methods for sample preparations

Alcohols	Recovery (mean $\pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$) ^a			Reproducibility [Area R.S.D. (%)]			Accuracy [relative error (%)]		
	Distil.	Extrac.	S.P.E. ^b	Distil.	Extrac.	S.P.E.	Distil.	Extrac.	S.P.E.
Methyl alcohol	42.47 \pm 0.97	81.20 \pm 11.02	17.44 \pm 1.34	5.08	6.93	1.30	-35.34	-22.1	0.41
Ethyl alcohol	82.39 \pm 6.70	81.13 \pm 9.14	44.51 \pm 2.99						
sec-Butyl alcohol	78.40 \pm 6.75	99.43 \pm 9.07	81.90 \pm 2.99		7.34	2.01			
n-Propyl alcohol	84.74 \pm 6.66	94.87 \pm 10.60	76.61 \pm 3.59	12.58	5.26	1.18	5.48	-6.69	0.08
Isobutyl alcohol	81.42 \pm 6.33	100.28 \pm 8.58	87.72 \pm 2.46	12.57	12.39	2.69	14.39	-6.00	0.00
n-Butyl alcohol	90.12 \pm 4.02	100.55 \pm 7.00	93.66 \pm 2.08	13.35	10.89	3.16			
Isopentyl alcohol	91.42 \pm 2.58	103.88 \pm 6.13	98.59 \pm 0.59	13.82	18.26	4.45	7.05	0.95	0.03
n-Pentyl alcohol	96.19 \pm 2.25	102.39 \pm 5.52	98.24 \pm 0.23	14.71	9.52	4.76	5.13	-1.05	-0.27
n-Hexyl alcohol	103.89 \pm 2.44	104.06 \pm 3.35	99.76 \pm 0.62		2.54	5.43	7.07	7.73	0.11
n-Heptyl alcohol	102.18 \pm 2.75	103.68 \pm 2.03	91.83 \pm 4.45						
Phenethyl alcohol	59.53 \pm 12.86	95.96 \pm 0.60	98.30 \pm 4.76	25.28	12.78	1.05	-57.52	11.2	0.085

^aFive replication ($n=5$), confidence interval at 95% confidence level. ^bSolid phase extraction by polydivinyl benzene.

용한 추출, 농축이 더 유용함을 알았다.

일반적으로 향기성분 분석의 전처리 방법으로 purge and trap법²⁴⁻²⁷, headspace법²⁸, simultaneous distillation법²⁹⁻³¹ 등이 연구되어 왔으나 과정의 복잡성, 회수율, 시료의 손실, 특수장치의 필요성, 재현성 등의 문제점이 있는 것으로 지적되었다. 근래에는 고체상추출(solid phase extraction)^{32,33}에 의한 전처리 방법이 성행하고 있는데 Shimoda 등³⁴은 간장증의 향기성분 추출 및 농축에 각종 흡착제를 비교 실험한 결과 다공성 중합체인 polydivinyl benzene (Porapak Q)가 가장 효과적이라고 보고하였다. 알코올 동족체의 고체상 추출 및 농축에 좀 더 적합한 흡착제 탐색을 위해서는 지속적인 연구가 필요하다고 생각된다.

소주의 전체이온크로마토그램(TIC)과 질량스펙트럼. 4종의 소주와 3종의 카오랑츄를 다공성 중합체를 이용해서 추출, 농축한 다음 GC-MS에 주입해서 구한 TIC는 Fig. 7과 같다. 알코올 성분 피이크들의 질량 스펙트럼은 다음과 같은 특성을 나타내었다.

Methyl alcohol(m.w.=32.04): $m/e=31$ 의 base 피이크를 나타내었다.

Ethyl alcohol(m.w.=46.06): $m/e=46$ 이 분자 이온 피이크이고, $m/e=31$ 의 base 피이크는 알코올류에 공통적으로 나타나는 피이크로서($M-CH_3$)⁺ 즉 $CH_2=OH^+$ 이온의 피이크이다. 그리고 ($M-1$)⁺ 즉 CH_3

CH_2O^+ 이온의 피이크가 $m/e=45$ 에서 강하게 나타났다. Methyl alcohol과 ethyl alcohol은 ($M-1$)/M의 비가 크다는 특징을 보였다.

n-Propyl alcohol(m.w.=60.09): $m/e=60$ 이 분자 이온 피이크이고, $m/e=31$ 에서의 base 피이크는 ($M-C_2H_5$)⁺ 즉 $CH_2=OH^+$ 이온의 피이크로 볼 수 있고, $m/e=29$ 에서 $CH_3=CH_2^+$ 이온의 피이크를 관찰할 수 있다.

Isobutyl alcohol(m.w.=74.12): $m/e=74$ 이 분자 이온 피이크이고, $m/e=41$, 43에서의 강한 피이크는 $CH_3CH(CH_3)CH_2OH$ 에서 $H_2C=C^+H=CH_2$ 이온과 ($H_2C=CHCH_3$)⁺ 이온의 것으로, $m/e=31$ 은 $CH_2=OH^+$ 이온의 피이크로 볼 수 있다.

Isopentyl alcohol(m.w.=88.15): 분자 이온 피이크는 나타나지 않았고, $m/e=70$ 을 탈수반응에 의해 분자이온에서 물 분자가 하나 빠진 ($M-18$)⁺ 피이크로 본다. $m/e=55$ 에서의 피이크는 ($H_2C=C(CH_3)-CH_2$)⁺ 이온으로 볼 수 있고, $m/e=41$ 에서의 피이크는 분자에서 H_2O 및 $CH_2=CH_2$ 가 떨어져 나간 $CH_2=CH_2-CH_3^+$ 으로 생각된다.

Phenethyl alcohol(m.w.=122.16): $m/e=122$ 를 분자 이온 피이크로, $m/e=91$ 의 base 피이크를 $C_6H_5=CH_2^+$ 이온의 피이크로 볼 수 있다.

조금씩의 차이는 있지만 알코올 발효 및 증류 과정에서 생성되는 ethyl alcohol 이외에 methyl alcohol, n-propyl alcohol, isopentyl alcohol과 원료중의

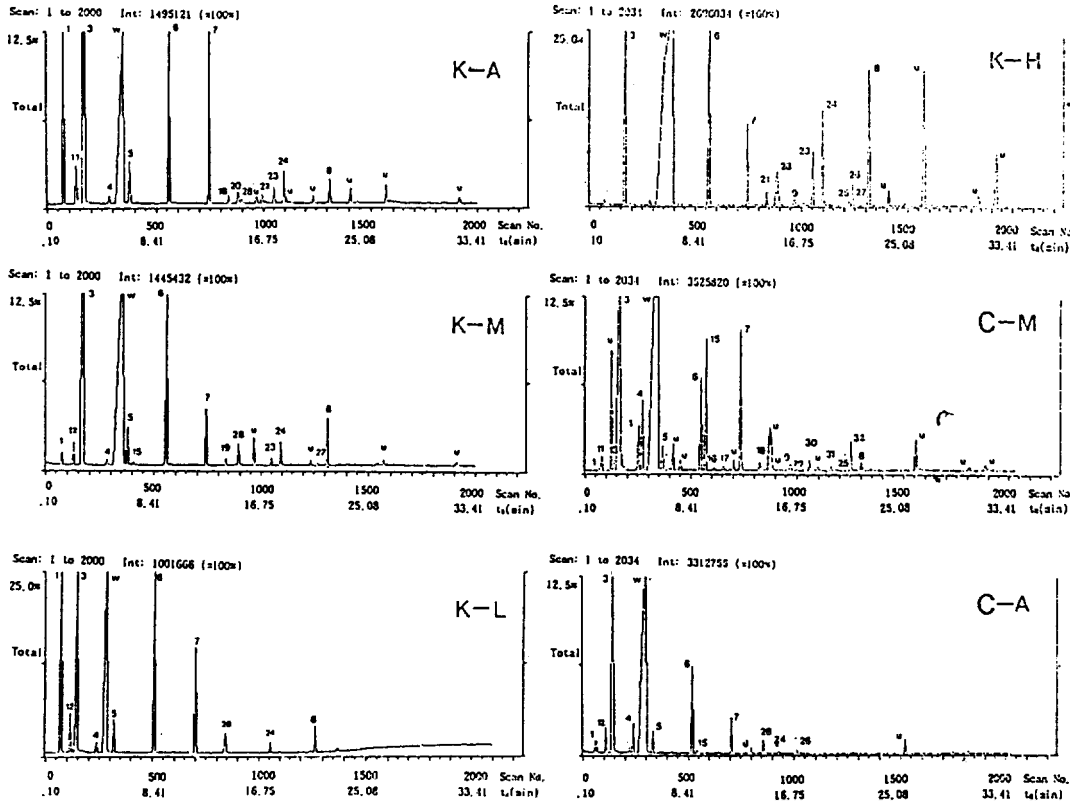


Fig. 7. Total ion chromatograms of sojues: K-A: Andong soju, K-H: Jindo hongju, K-L: Leekangju, K-M: Moonbaesul, C-A: Ergoutoutiu, C-M: Moutaichiew.

아미노산 성분인 valine으로부터 유래된 isobutyl alcohol과 phenyl alanine이 분해되어 생긴 장미향의 phenethyl alcohol 등이 함유되어 있는 것을 알 수 있었다. 그 밖에 aldehyde 및 ester 성분의 존재도 동시에 확인되었다.

이렇듯 증류주의 알코올 성분이 다양한 것은 제조 원료의 차이와 생육 미생물, 발효조건, 발효기간 등의 제조 과정상의 차이에 기인하는 듯하다. 이들 성분은 소주에 극미량 존재할 경우 술의 맛과 향을 증가시키는 효과가 있지만, 술에 과량 존재하거나 과량 섭취할 경우 인체에 해로운 영향을 줄 수 있다. 그러나 향기성분의 LD₅₀값을³⁵ 비교해 볼 때 함량은 거의 무시될 정도의 극미량이므로 지나치게 과음하지 않는 한 인체에 해로운 영향은 무시할 수 있다.

소주중 알코올 동족체 정량. 수증기 증류법과 용매추출법으로 분석한 소주시료중의 알코올 동족체

함량을 Table 4에 나타내었다.

n-Propyl alcohol, isobutyl alcohol, isopentyl alcohol 등의 퓨젤유의 양은 소주시료 모두가 규격 기준인 0.15% 이하에 적합하였다. Isopentyl alcohol (일명 isoamyl alcohol), isobutyl alcohol, *n*-propyl alcohol의 상대비(ABP ratio)가 소주의 맛과 향을 좌우한다는 보고³⁶에 따라 이들의 비율 Fig. 8에 나타내었다. 이들 퓨젤유는 그 양이 많으면 취취한 냄새가 나고 두통과 숙취의 원인이 되지만 소주에 극미량 존재할 경우 맛과 향을 높인다. 이들 알코올은 그 자체의 양도 맛에 영향을 주지만, 이들 양의 비율 즉 양적인 균형이 맛에 끼치는 영향이 더 크다 하겠다. ABP 비는 우리의 전통 민속소주와 중국의 카오량츄가 확연히 다르게 나타났는데, 우리나라 전통 민속소주는 약 4:2:1 정도로 isopentyl alcohol의 함량이 단연 많았다. Ergoutoutiu는 A>P>B

Table 4. Contents of alcohols in sojues (unit: mg/ml, mean $\pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$)^a

		MeOH	2-BuOH	<i>n</i> -PrOH	<i>i</i> -BuOH	<i>i</i> -PenOH	<i>n</i> -HexOH	PhenOH
Andong soju	D ^b	0.0181 ± 0.004		0.1636 ± 0.007	0.2818 ± 0.037	0.5789 ± 0.026	0.6170 ± 0.352	
	E ^b			0.108 ± 0.001	0.275 ± 0.044	0.676 ± 0.011	0.397 ± 0.097	0.092
Moonbae sul	D			0.1346 ± 0.001	0.2788 ± 0.002	0.7305 ± 0.002	0.0817 ± 0.002	0.1928 ± 0.048
	E			0.085 ± 0.003	0.205 ± 0.004	0.801 ± 0.006	0.143 ± 0.006	
Leekangju	D	0.0327		0.1069 ± 0.003	0.1314 ± 0.002	0.5160 ± 0.006		
	E			0.073 ± 0.003	0.116 ± 0.005	0.562 ± 0.012		
Jindo Hongju	D			0.2009 ± 0.032	0.3162 ± 0.012	0.7884 ± 0.056		
	E			0.160 ± 0.014	0.229 ± 0.012	0.801 ± 0.151	0.087 ± 0.051	0.033 ± 0.005
Moutaichiew	D		0.1256 ± 0.026	1.2588 ± 0.194	0.1654 ± 0.024	0.4183 ± 0.040		0.0720
	E		0.094 ± 0.006	1.086 ± 0.123	0.162 ± 0.018	0.374 ± 0.030		0.065 ± 0.012
Ergoutoutiu	D			0.6215 ± 0.015	0.3353 ± 0.014	0.8322 ± 0.026	0.1122	0.0818
	E	0.051		0.534 ± 0.037	0.270 ± 0.024	0.779 ± 0.010	0.215 ± 0.067	0.053 ± 0.003

^aConfidence interval at 95% confidence level. ^bD: Steam distillation method, E: Solvent extraction method.

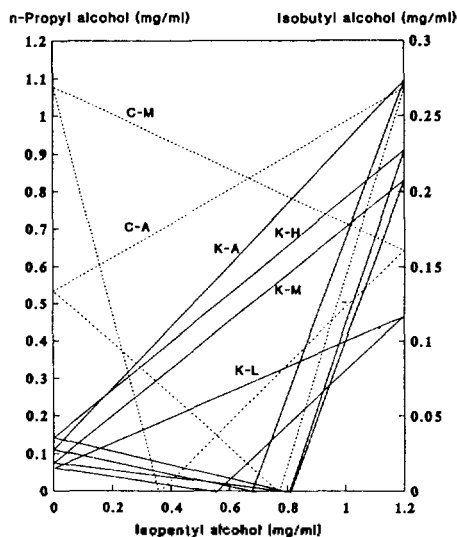


Fig. 8. Patterns represented the amount of isopentyl alcohol, isobutyl alcohol, and *n*-propyl in Korean sojues and Chinese kaoliangchiews.

순으로 함량이 많았다. Moutaichiew는 특이하게도 *n*-propyl alcohol의 함량이 다른 두 알코올에 비해 월등히 많은 것으로 나타났다.

세 가지 알코올의 맛과 향을 비교해 보면 *n*-propyl alcohol은 알코올 특유의 향에 사람을 약하게 마취시키는 작용이 있고, isobutyl alcohol과 isopentyl alcohol은 불쾌한 향을 가지고 있다. 활성탄과 같은 흡착제나 이온교환수지 또는 겔 여과장치를 사용하여 일부 성분을 제거시키거나 발효 및 증류조건의 조절을 통하여 ABP 함량비 조절을 모색한다면 전통소주의 맛과 향의 개선이 가능하리라 추정된다.

주성분 분석에 의한 성분함량 형태 인식. 소주에 들어있는 성분함량 형태 인식(components pattern recognition)은 소주의 품질평가 및 관리, 맛과 향의 개선 그리고 법화학적 감별에 관한 중요한 정보를 제공할 수 있다. 소주의 GC profile로부터 알코올

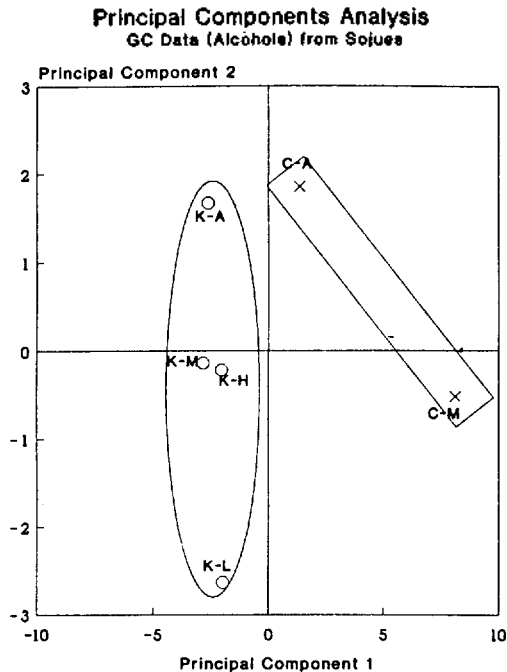


Fig. 9. Comparison of Korean folk soju samples with Chinese kaoliangchiew samples by PCA score plot. K-A: Andong soju, K-H: Jindo hongju, K-L: Leekangju, K-M: Moonbaesul, C-A: Ergoutoutiu, C-M: Moutaichiew.

성분별 함량을 막대 그래프로 작성하면 특성의 지문(finger print)이 얻어지므로 형태 비교를 통해 소주의 정성, 동정 및 품질비교가 가능하다. 그러나 이러한 이차원적 비교로는 복잡한 성분들의 정량값들이 갖고 있는 특성을 파악하기 어렵다. 6개 시료에 대한 6종의 알코올 동족체 정량값은 바로 6×6의 행렬(matrix)로 볼 수 있으므로 이 행렬에 대한 다변량 통계해석학의 한 기법인 PCA를 적용하여 알코올 동족체 전체를 대표하는 종합적 특성을 추출해 낼 수 있다. 각 시료에 대한 주성분점수 PC-1과 PC-2의 상관관계를 도시하면 Fig. 9와 같다. 우리나라 전통민속소주들은 PC-1 점수가 거의 비슷하였으나 PC-2 점수는 편차를 나타내었고 중국산 카오량췌와는 확연히 구분된 cluster 형태를 보여주었다. 즉 미지의 술을 이중맹검법(double blind test)으로 분석할 경우 그 PCA 분석을 통하여 그 술이 기존의 어느 술에 가까운가를 확인할 수 있으므로 종래 감별사의 감각에 의존한 관능검사(sensory evaluation)

보다 훨씬 객관적 자료를 제시할 수 있다고 생각된다.

이 연구는 1993년도 교육부 자원 학술진흥재단의 대학 부설 연구소 연구과제 지원비 및 1994년도 서울여자대학교 연구지원비로 수행되었으며 이에 감사드립니다. 또한 안동소주 시료를 기증해 준 무형문화재 제조기능자인 조옥화씨께 감사드립니다.

인 용 문 헌

1. 李瑞來, 韓國의 醱酵食品; 梨花女大 出版部, 1986; p 205, 229.
2. 李瑞石, 韓國食品史, 韓國文化史大系 IV; 高麗大 民族文化研究所, 1970; p 193~297.
3. 徐有渠, 林園十六志; 奎章閣圖書, 1827.
4. 朝鮮酒造協會, 朝鮮酒造史; 1935; p 158.
5. 백운화, 식품과학과 산업 1988, 21, 54.
6. 文化財管理局, 無形文化財指定調査報告書, 163호 (傳統民俗酒); 1985.
7. Woodman, A. G. In *Food Analysis-Typical Methods and Interpretation of Results*; McGraw-Hill: New York, 1959; p 486.
8. Williams, S. In *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*; AOAC Inc.: Arlington, 1984; AOAC 9.032, 9.102.
9. Pilone, G. J. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1985, 68, 188.
10. DiCorcia, A.; Samperi, R.; Severini, C. *J. Chromatogr.* 1980, 198, 347.
11. Yamamoto, D.; Tsukada M.; Sato, D. *Bunseki Kagaku* 1991, 40, 181.
12. Galiignani, M.; Garrigues, S.; de la Guardia, M. *Analyst* 1993, 118, 1167.
13. Iwachido, T.; Ishimarku, K.; Toei, K. *Anal. Sci.* 1986, 2, 495.
14. Nagaoka, H.; Nohta, H.; Kaetsu, Y.; Saito, M.; Ohkura, Y. *ibid.* 1989, 5, 525.
15. Toyo'oka, T.; Ishibashi, M.; Terao, T.; Imai, K. *Analyst* 1993, 118, 759.
16. Uketa, H.; Nakada, Y.; Matsumoto K.; Osajima, Y. *Bunseki Kagaku* 1990, 39, 723.
17. Zenki, M.; Sakita, E.; Hironaka T.; Toei, K. *ibid.* 1990, 39, 597.
18. Saitoh, E.; Tokuda, H.; Matsumoto, K. *ibid.* 1991, 40, 277.
19. Martin, G. E.; Burgraff, J. M.; Dyer, R. H.; Buscemi, P. C. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1981, 64,

- 186.
20. Cutaia, A. J. *ibid.* **1984**, *57*, 192.
21. Nakasawa, E. *J. Brew. Soc. Japan* **1983**, *78*, 223.
22. 姜炳瑞. 多變量統計學; 法文社, 1990; p 451~472.
23. Miller, J. C. and Miller, J. N. In *Statistics for Analytical Chemistry*, 2nd ed; Ellis horwood: Chichester, 1988; p 89~190.
24. Otson, R. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1987**, *31*, 41.
25. Duffy, M.; Driscoll, J. N.; Pappas, S.; Sanford, W. *J. Chromatogr.* **1988**, *441*, 73.
26. Hammers, W. E.; Bosman, H. F. P. M. *ibid.* **1986**, *360*, 425.
27. Ho, J. S. H. *J. Chromatogr. Sci.* **1989**, *27*, 91.
28. Först, C.; Stieglitz, L.; Roth, W.; Kuhnlich, S. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1989**, *37*, 287.
29. Gode, M.; Sandra, P.; Verzele, M. *J. Chromatogr.* **1981**, *203*, 325.
30. Au-Yeung, C. Y.; MacLeod, A. J. *Agric. Food Chem.* **1981**, *29*, 502.
31. Maignial, L.; Pibarot, P.; Bonetti, G.; Chaintreau A.; Marion, J. P. *J. Chromatogr.* **1992**, *606*, 87.
32. Sánchez Muñoz, G.; Garcia Romero, E.; Pérez Coello M. S.; Martin Alvarez, P. J. *ibid.* **1992**, *623*, 43.
33. Rouseff, R. L.; Dettweiler, G. R.; Swaine, R. M.; Naim, M.; Zehavi, U. *J. Chromatogr. Sci.* **1992**, *30*, 383.
34. Shimoda, M.; Hirano, K.; Osajima, Y. *Bunseki Kagaku* **1987**, *36*, 792.
35. *The Merck Index*; Windholz, M., Ed.; Merck: Pathway, U. S. A., 1983.
36. Nishitani, T. *J. Brew. Soc. Japan* **1977**, *72*, 415.