

제조방법을 달리한 머루주의 휘발성 향기성분과 유기산 성분 및 품질평가에 관한 연구

고경희

(가톨릭대학교 식품영양학전공)

Study on the Volatile Flavor, Organic Acids and Quality Evaluation of Moru-Ju

Koh, Kyung-Hee

Major of Food Science and Nutrition, The Catholic Univ.

적 요

머루(*Vitis amurensis*)의 유기산 함량은 CM(머루즙 발효균)의 경우 발효 기간동안 oxalic acid와 fumaric acid는 미량 존재하였고, malic acid는 3320.4~2384.4ppm, tartaric acid는 2607.5~1005.1ppm으로 발효기간 동안 감소하였다. Lactic acid는 968.1~1200.5ppm, acetic acid는 245.8~2415.2ppm, succinic acid는 173.4~287.2ppm, citric acid는 665.7~1828.6ppm의 증가 추세를 나타내었다. NM(머루껍질과 씨를 함께 발효균)의 경우에는 머루의 껍질과 씨를 함께 넣어 발효한 것으로 유기산의 함량이 다른 것에 비하여 대체적으로 높게 나타났다. Malic acid는 5710.8~4483.1ppm, tartaric acid는 2829.2~1696.0ppm, succinic acid는 388.1~312.3ppm으로 발효기간 동안 감소하였으며, lactic acid는 1427.7~2649.7ppm, acetic acid는 167.4~1829.5ppm, citric acid는 924.6~1914.1ppm으로 증가 추세를 나타내었다.

CM 머루주 발효과정 중 생성된 향기 성분으로 acids 10종류, alcohols 12종류, aldehydes 1종류, esters 18종류, furans 및 phenols 6종류를 확인하였고, NM 머루주는 acids 11종류, alcohols 11종류, aldehydes 1종류, esters 21종류, furans 및 phenols 4종류를 확인하였다. 제조방법에 따른 acid류를 비교해 보면 CM 머루주의 함량크기 순서는 n-caproic acid는 0.46ppm, caprylic acid는 0.41ppm, 그리고 n-capric acid는 0.13ppm을 나타내었으며, NM의 경우 n-caproic acid, 0.64ppm, caprylic acid 0.56ppm, n-capric acid 0.40ppm으로 CM보다는 NM의 함량이 높게 나타났다. CM의 alcohol류의 경우 3-methyl-1-pentanol, 1-heptanol, 2,3-butanediol, ethylcarbitol이, NM의 경우 isopentyl alcohol, 3-methyl-1-pentanol, 1-heptanol, 2,3-butanediol, ethylcarbitol은 머루즙에 존재하지 않고, 알코올 발효에 의해 생성되는 2차 알코올류 이다. 머루주에는 benzeneethanol, isopentyl alcohol, 1-hexanol, 2,3-butanediol의 함량 순으로 나타났다. 발효기간 동안 1-hexanol의 함량을 보면 CM은 0.56-1.10ppm, NM은 0.23-0.65ppm으로 증가하다가 감소하는 경향으로 CM의 경우 더 많은 함량을 나타냈다. Ester 류의 경우 CM 머루주에는 ethyl caproate 0.12ppm, ethyl lactate 0.03ppm, ethyl caprylate 0.14ppm, ethyl acetate 0.05ppm, ethyl valerate 1.31ppm, 2-phenylethyl acetate 0.07ppm, 2-ethyl caproate 0.35ppm와 ethyl palmitate 0.37ppm이 함유되었고, NM 머루주는 ethyl caproate 0.12ppm, ethyl lactate 0.01ppm, ethyl caprylate 0.14ppm, ethyl acetate 0.02ppm, ethyl valerate 0.53ppm, 2-phenylethyl acetate 0.03ppm, 2-ethyl caproate 0.32ppm, ethyl palmitate 0.06ppm, ethyl oleate 0.05ppm, ethyl linoleate 0.05ppm을 나타냈으며, 발효말기에는 점점 감소하는 경향을 나타내었다. CM 머루주와 NM 머루주 관능검사를 실시한 결과로 색깔, 향기, 맛, 종합 평가 모두 유의 차이가 있었다($p < 0.05$). NM 머루주는 CM 머루주 보다 색깔과 향기는 강하나, 맛의 경우 CM보다 낮은 기호도를 나타내어 내었으며 주로 신맛, 쓴맛, 떫은맛이 강하게 느껴진다고 표현하였다. 종합평가의 경우 CM이 NM보다 약간 높게 평가되었다.

I. 서론

과실주의 휘발성 향기성분은 과실주 품질을 결정하는 중요한 요소로서 인식되어 왔으며 유럽이나 미국, 일본 등지에서는 이에 대한 연구가 활발하게 수행되어 왔다[Cabaroglu *et al.*(1997), Chisholm *et al.*(1995), Killian *et al.*(1979), Presa-Owens *et al.*(1995), Salinas *et al.*(1994), Darias-Martin *et al.*(2000)]. 과실주의 향을 일반적으로 세 가지 향으로 나눌 수 있는데 첫째는 과실 자체가 지니고 있는 향기와 둘째는 발효과정 중 효모에 의해서 생성되는 향, 셋째는 과실주가 숙성되면서 생성되는 향기로 이 세 가지 향이 복합적으로 작용하여 '부케(bouquet)'라는 용어로 과실주의 향기를 표현하게 된다. 발효과정 중 효모에 의해 합성되는 휘발성 향기성분으로는 volatile organic acid, aldehydes류, alcohol류, ester류가 있는데 이중 많은 부분을 fatty acid ester와 고급 알코올이 차지하고 있어서 과실주 특유의 'fruity', 'floral'한 성질을 부여하게 된다[Nykanen *et al.*(1964), Soles *et al.*(1982), Suomalainen *et al.*(1978)]. 효모에 의해 ester가 합성되는 기작은 Nordstrom(1964)이 설명하였고, Schreier [Schreier *et al.*(1976)] 등이 정리하였다.

머루 (*Vitis amurensis*)는 포도 (*Vitis vinifera*)와 비슷한 과실로 우리 나라에서 자생하며 이에 관한 과학적 연구가 많이 없으며 단편적이다. 우리 나라에서는 머루주에 관한 연구로서 Hwang[Hwang *et al.*(1975)] 등의 머루 안토시아닌 색소 분리에 관한 연구, Cho [Cho(1995)]의 머루주 발효 중 유기산의 변화 관찰과 같은 거의 단편적인 연구이며, Koh[Koh(2000)]는 머루주의 제조 방법을 달리하여 머루 천연색소인 폴리페놀 색소를 ESR로 라디칼 소거효과에서 포도보다 우수한 항산화 활성이 있어 건강 기능적 효과의 우수함을 나타내었다.

머루주를 선택하는 요소로 가장 중요한 역할을 하는 flavor에 관한 국내 연구는 거의 없는 실정이다. 머루주의 flavor는 발효온도, 효모의 종류, 머루품종, 양조기술 등 매우 미묘하고 섬세한 요소에 의해 영향을 받기 때문에 flavor의 성질과 복잡성을 규명하는

데 많은 어려움이 있으며 flavor에 대한 기초 연구 없는 머루주의 주질 개선은 어렵다고 생각된다.

외국의 과실주 휘발성 향기성분에 관한 현재까지의 연구를 살펴보면 ester의 형성에 효모의 종류, 발효온도, 포도즙의 조성, SO₂의 함량이 미치는 영향에 관한 연구[Soles *et al.*(1982), Suomalainen *et al.*(1978)]와 휘발성 향기물질의 분석, 동정에 관한 연구 [Kotorman *et al.*(1991), Lopez *et al.*(1992)] 등이 있다.

최근 향기성분을 포집하고 분석하는 기술에 대한 연구가 두드러지게 발전하고 있는데 과실주의 향기성분을 포집하기 위해 주로 사용되고 있는 방법으로는 유기용매를 이용한 추출방법[Schreier *et al.*(1976)]과 headspace에 있는 향기성분을 밀폐된 관을 통하여 질소나 헬륨과 같은 무취의 기체로 purging을 하여 acetone과 얼음, dry ice 등으로 싸여 있는 cold trap에서 향기성분을 포집하는 방법[Shimoda *et al.*(1993), Towey *et al.*(1996), Villen *et al.*(1995)], 그리고 초임계유체를 사용하여 특수한 향기성분을 분취하는 방법 등이 있다. 그밖에 품종 선발에 대한 연구[Park(1975), Yoo *et al.*(1984)]와 양조 및 효모에 대한 연구[Koh *et al.*(1999), Lee *et al.*(1998), Shindo *et al.*(1992), Soles *et al.*(1982), Suomalainen *et al.*(1978)]등이 있다.

본 연구에서는 경기도 파주시 적성면에서 수확한 머루를 이용하여 머루주의 기호도에 영향을 주는 성분들을 발효과정 및 저장 중 유기산을 HPLC로, 휘발성 향기성분 분석을 발효과정 및 저장 중에 생성되는 flavor의 종류와 양을 gas chromatography와 gas chromatography-mass spectrometer로 비교 분석하였다. 그리고 머루가 가지고 있는 색깔, 맛과 향기 등은 관능평가로 평가하였다.

II. 연구내용 및 방법

1. 머루주 제조

2000년 가을에 수확한 머루를 제경(destemming)과 파쇄(crushing)를 한 후 SO₂를 아황산(H₂SO₃, sulfurous acid 6%)의 형태로 50ppm 첨가한다. 제조방법은 Fig. 1과 같이 제조한다. 착즙한 과즙에서 고품질(pomace, 粕)을 제거하기 위하여 원심분리하여 청

정시킨 후 11%의 알코올을 얻기 위해 당도가 20.0 °Brix가 되도록 saccharose(Junsei chemical Co, Japan)로 보당(sugar addition)한다. 2.0×10^6 CFU/ml의 건조 효모(*Saccharomyces cerevisiae*, Fermirouge: No. 7303 INRA Narbonne, Gist-brocades, Food Ingredients Division, BP 239, 59472 Seclin cedex, France)를 접종하여 12°C의 통성혐기성 조건하에서 발효를 실시하였다.

2. 시약

총페놀 함량측정에는 Folin&Ciocalteu's phenol reagent(Junsei, Japan), sodium carbonate(Korea), 유기산 표준제품과 휘발성 향기성분 표준제품은 Sigma(St. Louis, MO, USA)와 Aldrich제품(Aldrich Chemical Co., USA.)로, 환원당과 에타놀 함량은 Boehringer Mannheim GmbH Kit (Mannheim, Germany) 제품으로 사용하였다.

3. 머루주 일반분석

머루주의 brix, total acidity, pH, total phenolic acid [Zoecklein(1990)], ethanol content, reducing sugar [Boehringer mannheim(1995)]는 효소학적 방법으로 분석하였다.

4. 유기산 분석

Oxalic acid, tartaric acid, malic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid, fumaric acid를 각각 농도별(0.1, 0.5, 1 mg/ml)로 조제하여 표준용액으로 하고, 시료는 증류수로 3배 희석하여 사용한다. 분석조건은 HPLC(Hewlett Packard, USA)1100 series를 이용하고 컬럼은 Hypersil-ODS(200 4.6mm, 25°C), 이동상은 0.5% KH₂PO₄, 검출기는 DAD (210 nm), 유속은 0.6 ml/min, 주입량은 10 μ l로 분석하였다.

5. 휘발성 향기성분 추출

머루주의 향기성분 분석은 머루원액을 발효기간 동안 향기성분의 변화를 제조 방법에 따라 관찰하였다. 발효액은 4°C에서 10000rpm으로 원심분리(Sorvall[®] RC 26 plus, Dupont, USA)하여 효모를 분

리하였다. 효모를 분리해낸 상층액 50ml를 100ml 분별깔대기에 넣고 여기에 internal standard인 2-octanol(100mg/l, 50% ethanol) 1ml와 4ml의 ether과 hexane의 혼합용매(Junsei, Japan, 1:1, v/v)를 가하고 5분간 진탕하여 향기성분을 추출하였다. 이 과정을 3회 반복하여 얻은 추출액에 무수 황산나트륨(Na₂SO₄, Yakuri Pure Chemicals Co., Japan)를 0.5g 가하고 냉동고에서 6시간 방치한다. 이렇게 탈수한 추출액을 실온에서 질소 기류하에 250 μ l까지 농축한 후 300 μ l glass cap tube (CROMATO[®], USA)에 넣어 냉동고에서 저장하면서 분석에 사용하였다 [Koh et al.(1998)].

6. GC에 의한 휘발성 향기성분 분석

향기성분 분석에 사용한 GC는 Hewlett-packard 5890 II Plus이며 column으로는 극성인 Supelcowax 10 fused silica capillary column(0.32mm i.d., ×60m in length, wall coated with poly ethylene glycol, film thickness 0.25 μ m, Supelco[™], Inc., U.S.A)을 사용하였다. 이때 injector와 detector ports의 온도는 각각 250°C 및 260°C이며 column의 온도는 40°C에서 3분간 유지한 다음 230°C까지 3°C/min 속도로 올린 후 이 온도에서 20분간 유지시켰다. Carrier gas로는 helium을 유속 1.5ml/min으로 사용하였고 injector port에서의 split ratio는 1:50으로 조절하였다. Detector로서는 FID를 사용하였고 이때 보충기체로서 질소를 사용하였다. 시료는 1 μ l를 주입하여 GC chromatogram에 나타난 화합물은 basic program이 내장된 integrator로부터 각각의 retention index(RI)를 구하여 화합물의 동정에 필요한 자료로 활용한다.

7. GC/MS에 의한 휘발성 향기성분 동정

Ether와 hexane의 혼합용매로 추출한 향기성분을 확인하기 위하여 GC-MS system을 사용하여 분석을 실시하였다. 사용한 GC의 조작조건은 위에서 설명한 바와 같으며 GC에서 MS로 시료를 도입시키기 위한 interface 온도는 200°C이었다. MS는 Concept II(Kratos Analytical, Manchester, UK)이며 시료의 이온화는 electron impact(EI) 법으로 행하였다. GC/MS 분석을 위한 조건으로 ionization voltage 70eV, mass range는

10-300m/e로 설정하고 온도 program 등 다른 분석 조건들은 GC와 동일하게 하였다. 한편, GC의 검출기로 사용한 FID에서 얻어진 chromatogram과 MS에서 얻어진 total ion chromatogram을 상호비교하기 위한 표준물질로는 Sigma제품(Sigma Chemical Co., USA.)과 Aldrich제품 (Aldrich Chemical Co., USA.)을 사용하였으며, 먼저 표준물질을 GC에 주입하였을 때 FID에서 얻어지는 chromatogram으로 부터 각각의 표준물질의 머무름 시간 (retention time)을 구하였다. FID에서 분리된 각 peak의 동정은 Wiley nbs mass spectral database version 3,60(National Bureau of Standard, Washington, D.C., USA)을 사용하여 비교하였다. 머루주 향기성분의 양적인 변화는 GC검출기로 사용된 FID의 response(area count)를 자동적분기 (HP3396A, Hewlett-packard, USA)로 측정하고 절대적인 값으로 나타내었다.

8. 관능검사 및 통계처리

머루주의 기호도 조사는 전문인 12명을 대상으로 실시하였다. 색(color), 향(flavor), 맛(taste) 전반적인 평가(total evaluation)의 4항목을 5점 기호 척도법으로 평가하였다. Two-paired test 통계처리는 SAS (Statistical Analysis System)를 이용하여 각 항목의 유의성을 검증하였다[Lee et al.(1999)].

III. 결과 및 고찰

머루주 제조 및 일반성분 분석

Fig. 1의 방법으로 제조하였다. CM 머루주의 성분은 brix는 6.0, total acidity는 4.5, pH는 3.4, ethanol content는 12.0%, reducing sugar는 <2g/L, total phenolic acid는 3,120mg/L 이었다. NM 머루주는 brix는 6.0, total acidity는 4.7 pH는 3.3, ethanol content는 12.6%, reducing sugar는 <2g/L, total phenolic acid는 3,520mg/L 이었다.

유기산 분석

Oxalic acid, tartaric acid, malic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid, fumaric acid를 각각 농도별

(0.1, 0.5, 1mg/mL)로 조제하여 표준용액으로 하고, 시료는 증류수로 3배 희석하여 사용하였다. 분석조건은 HPLC(Hewlett Packard, USA)1100 series를 이용하고 컬럼은 Hypersil-ODS(200×4.6mm, 25°C), 이동상은 0.5% KH₂PO₄, 검출기는 DAD(210nm), 유속은 0.6mL/mn, 주입량은 10μ로 분석하였다.

Fig. 1에서 CM은 발효 기간동안 oxalic acid와 fumaric acid는 미량 존재하였고, malic acid는 3320.4-2384.4ppm, tartaric acid는 2607.5-1005.1ppm으로 발효 기간 동안 감소하였다. Lactic acid는 968.1-1200.5ppm, acetic acid는 245.8-2415.2ppm, succinic acid는 173.4-287.2ppm, citric acid는 665.7-1828.6ppm의 증가 추세를 나타내었다. NM의 경우에는 머루의 껍질과 씨를 함께 넣어 발효한 것으로 유기산의 함량이 다른 것에 비하여 대체적으로 높게 나타났다. Malic acid는 5710.8-4483.1ppm, tartaric acid는 2829.2-1696.0ppm, succinic acid는 388.1-312.3ppm으로 발효기간 동안 감소하였으며, lactic acid는 1427.7-2649.7ppm, acetic acid는 167.4-1829.5ppm, citric acid는 924.6-1914.1ppm으로 증가 추세를 나타내었다.

그리고 종전의 방법인 CM 보다는 껍질과 씨를 같이 발효시킨 NM 머루주에서 유기산의 함량이 높게 나왔다. 특히, 머루자체의 유기산인 tartaric acid, malic acid의 함량이 높았으며, 발효과정 중에 생성되는 유기산인 lactic acid, acetic acid, succinic acid, citric acid의 함량이 비례적으로 높게 나타났다.

Cho(1995)는 머루즙에 20~35% 설탕을 첨가하여 13°C, 22~13°C, 20°C로 온도를 달리한 조건에서 머루주 발효 후 유기산의 함량을 조사하였다. Oxalic acid, citric acid, formic acid와 fumaric acid는 검출되지 않았으며 tartaric acid는 2.3-1.4mg/mL, malic acid는 8.8~2.2mg/mL 현저하게 감소하였다고 보고하였다. Lactic acid는 17.0~29.6mg/mL 형성되었으며 acetic acid도 1.5~6.0mg/mL 생성되었으며 이는 야생 균주에 의한 현상이라고 발표하였다. 이상의 결과 머루주 발효 중의 유기산의 변화는 유사하나 본 실험의 경우 유기산 함량이 많게 나타났다.

휘발성 향기성분의 확인

Fig. 3은 머루원액과 *S. cerevisiae*에 의해 발효된 NM 머루주를 diethyl ether와 hexane을 1:1 혼합한 유기용매로 추출한 다음 이를 GC로 분리해낸 chromatogram이다. 전체적으로 보아 retention 시간이 5분 정도 경과할 때부터 여러 성분이 용출되기 시작하는 것을 알 수 있었고 retention 시간이 50분대까지 향기 성분이 용출되어 유기용매 추출법이 비교적 비등점이 낮은 것부터 비등점이 높은 향기 성분을 포집하는데 효율적임을 알 수 있었다.

한편 머루원액과 머루주의 향기를 나타내는 향기 성분을 확인하기 위해 포집한 향기 성분을 GC-MS로 분석하여 mass spectrum을 얻어 이를 Wiley library로 확인한 다음 이들 중 확인된 48종의 주요 향기성분 변화를 Table 1, 2에 나타내었다. Table 1은 CM 머루주 발효과정 중 생성된 향기 성분으로 acids 10종류, alcohols 12종류, aldehydes 1종류, esters 18종류, furans 및 phenols 6종류를 확인하였고, Table 2는 머루껍질과 씨와 함께 발효시킨 NM 머루주는 acids 11종류, alcohols 11종류, aldehydes 1종류, esters 21종류, furans 및 phenols 4종류를 확인하였다.

Acid류

Acid류는 CM의 경우 acetic acid, butric acid, n-caproic acid, 2-hexenoic acid, caprylic acid, nonanoic acid, n-capric acid, palmitic acid, benzoic acid와 myristic acid의 10종이 확인되었으며, NM의 경우 lauric acid가 추가되어 11종이 확인되었다. Acid류는 CM의 경우 초기, 중기, 말기에 4.4%, 20.8%, 15.7%로 발효 18일째 최대의 함량을 나타내었고, NM의 경우 발효 6일째 최대의 함량을 나타내어서 4.9%, 20.0%와 15.7%로 비슷한 경향을 나타내었다.

제조방법에 따른 비교를 보면 CM 머루주의 함량 크기 순서는 n-caproic acid는 0.46ppm, caprylic acid는 0.41ppm, 그리고 n-capric acid는 0.13ppm을 나타내었으며, NM의 경우 n-caproic acid, 0.64ppm, caprylic acid 0.56ppm, n-capric acid 0.40ppm으로 CM보다는 NM의 함량이 높게 나타났다. 일반적으로 caproic acid는 pungent 하고, caprylic acid는 butter의 향이 나며 capric acid는 phenolic의 향을 갖는다고 알려져 있

다[Peynaud(1980)].

Alcohol류

머루즙에 함유되어 있는 알코올 성분으로 isopentyl alcohol, 3-methyl-1-pentanol, 1-hexanol, 3-hexen-1-ol, 1-heptanol, 2,3-butanediol, ethylcarbitol, carbitol, 3-(methylthio)-1-propanol, benzylalcohol, benzeneethanol과 4-methoxy-benzenepropanol의 변화를 관찰하였다. 이들 알코올성 수산기는 2중, 3중 결합이 있으면 향이 강하고 위치에 따라서도 향의 감지도 다르다고 하며, OH수가 많으면 향이 오히려 감소하고 방향족 알코올이 지방족 알코올보다 약하다고 한다[Baumes *et al.*(1986)]. 알코올류의 경우 CM은 대수기에는 14.7ppm, 정상기에는 21.1ppm, 사멸기에는 14.0ppm으로, 알코올류는 발효 정상기에 가장 많은 함량을 보였다. NM의 경우 정상기에는 21.5ppm, 사멸기에는 17.9ppm으로 알코올류는 발효 정상기에 가장 많은 함량을 보였다.

CM의 경우 3-methyl-1-pentanol, 1-heptanol, 2,3-butanediol, ethylcarbitol이, NM의 경우 isopentyl alcohol, 3-methyl-1-pentanol, 1-heptanol, 2,3-butanediol, ethylcarbitol은 머루즙에 존재하지 않고, 알코올 발효에 의해 생성되는 2차 알코올류이다. 머루주에는 benzeneethanol, isopentyl alcohol, 1-hexanol, 2,3-butanediol의 함량 순으로 나타났다.

발효기간 동안 1-hexanol의 함량을 보면 CM은 0.56~1.10ppm, NM은 0.23~0.65ppm으로 증가하다가 감소하는 경향으로 CM의 경우 더 많은 함량을 나타냈다. Salinas 등[Salinas *et al.*(1994, 1996)]은 포도주의 경우는 0.12~0.24mg/L이며, carbonic anaerobiosis (maceration carbonique) 방법이 전통적인 제조방법보다 낮게 나타났고 하였으며, 머루주의 경우 포도주보다 높은 함량을 나타내었다. Polyols에 속하는 2,3-butanediol은 bacterial alterations에서도 안정한 성분으로 포도주보다 낮게 나타났다[(Bertrand *et al.*(1975), Soufleros *et al.*(1978)].

Esters

Daudt등은 [Daudt *et al.*(1973)]는 발효 중 에스테르와 고급 알코올 함량이 효모의 종에 따라 그 생성

량과 조성에 큰 차이가 있다고 하였으며, Cottrell [Cottrell *et al.*(1986)] 등은 발효온도가 낮을수록 ethyl acetate를 많이 함유하고 품종에 따라 차이가 있으며 특히 Chardonnay 품종이 white riesling 등의 품종과 비교해서 2배정도 높다고 보고하였다. Groat[Groat *et al.*(1978)] 등은 불용성 고형분 함량이 증가함에 따라 isobutyl alcohol, active amylalcohol, isoamylalcohol의 함량이 증가하는 반면 n-propyl alcohol과 휘발성 ester 함량은 감소한다고 하였다. 효모 종류이외에도 에스테르의 형성은 발효 온도, SO₂ 함량, 포도품종 등에 의해서도 영향을 받는다고 한다.

Table 1에서 머루즙 CM의 esters 성분으로 2-methyl propionate, isovaleric acid, 2-ethyl caproate, 2-propenyl acetate, butyl-2-methylpropyl-1,2-benzenedicarboxylic acid의 5종류가 확인되었다. 발효기간 동안 효모에 의해 생성된 에스테르 향기 성분으로 ethyl caproate, ethyl lactate, ethyl caprylate, 3-hydroxy ethyl butyrate, 2-butanedioic acid diethyl ester, ethyl acetate, ethyl valerate, 2-phenylethyl acetate, diethyl hydroxy butanedioic acid, ethyl palmitate, benzeneacetic acid 2-propenyl ester, butanedioic acid diethyl acetate, phenyl acetic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-benzoic acid(ethyl ester)의 13개로 총 18개의 에스테르 성분들이 확인하였다.

Table 2 머루즙 NM의 에스테르 성분으로는 2-methyl propionate, isovaleric acid, 2-ethyl caproate, ethyl oleate, phenyl acetic acid, butyl-2-methylpropyl-1,2-benzenedicarboxylic acid의 6종류와 효모에 의한 에스테르 향기 성분으로 ethyl caproate, ethyl lactate, ethyl caprylate, 3-hydroxy ethyl butyrate, butanedioic acid diethyl ester, ethyl acetate, ethyl valerate, 2-phenylethyl acetate, diethyl hydroxy butanedioic acid, ethyl palmitate, benzeneacetic acid 2-propenyl ester, butanedioic acid diethyl acetate, ethyl linoleate, methyl linolenate, 4-hydroxy-3-methoxy-benzoic acid, ethyl ester, butyl-2-methylpropyl-1, 2-benzenedicarboxylic acid의 15개로 총 21개의 ester 성분들을 확인하였다.

NM이 CM 보다 에스테르 함량이 다소 많았다. 또

한 발효 기간별로 에스테르 생성량을 비교해 보면 CM은 18일에 전체생성 향기성분 중 ester류는 10.3%, 16.9%, 14.6%로 서서히 증가 후 감소하였으며, NM은 12.5%, 13.8%, 15.7%로 서서히 증가하는 경향을 나타내었다. Butanedioic acid diethyl ester, ethyl valerate, 2-ethyl caproate가 풍부하게 존재하는 에스테르들로 나타났다.

Nordstrom[1964]에 의하면 포도주가 발효되는 동안 합성되는 에스테르는 포도주에 함유되어 있는 acetic acid와 ethanol의 esterification을 통해서가 아니라 yeast cell 안에서 esterification이 일어나 합성되기 때문에 효모의 종류에 따라 에스테르 합성능력이 크게 좌우된다고 한다[Soles *et al.*(1982)]. 즉, ester의 합성은 포도주의 acid와 알코올의 농도보다도 ATP, acetyl coenzyme A등 ester의 형성 enzyme system 관련 유무에 영향을 더 받는다고 할 수 있다.

또한 Fig. 4는 발효 기간별로 에틸에스테르 생성량을 비교해 보면, 모두 발효 18일에 최대의 생성량을 보였다. CM 머루주에는 ethyl caproate 0.12ppm, ethyl lactate 0.03ppm, ethyl caprylate 0.14ppm, ethyl acetate 0.05ppm, ethyl valerate 1.31ppm, 2-phenylethyl acetate 0.07ppm, 2-ethyl caproate 0.35ppm와 ethyl palmitate 0.37ppm이 함유되었고, NM 머루주는 ethyl caproate 0.12ppm, ethyl lactate 0.01ppm, ethyl caprylate 0.14ppm, ethyl acetate 0.02ppm, ethyl valerate 0.53ppm, 2-phenylethyl acetate 0.03ppm, 2-ethyl caproate 0.32ppm, ethyl palmitate 0.06ppm, ethyl oleate 0.05ppm, ethyl linoleate 0.05ppm을 나타냈으며, 발효말기에는 점점 감소하는 경향을 나타내었다.

에스테르의 생합성 과정을 보면 우선 α -keto acid가 산화적 decarboxylation과정을 거쳐 acyl coenzyme A를 형성하게 된다. Acyl group의 alcoholysis에 의한 acyl coenzyme A의 절단은 ester의 생성을 가져오게 된다. 이는 에스테르의 합성이 포도주에 함유되어 있는 acetic acid와 ethanol의 esterification을 통해서가 아니라 yeast cell안에서 esterification이 일어나 합성된다는 Nordstrom의 보고와도 일치하였다[Nordstrom(1964)].

Ethyl butyrate는 사과향의 중요한 성분이고, ethyl

caproate는 딸기향을 갖고 있다고 한다[Peynaud (1980)]. Ethyl caprylate와 ethyl caproate는 꽃향기를 가지며, 2-phenylethyl acetate는 포도주향(wine-like)을 갖는 물질로 알려져 있다. 발효하는 동안 효모에 의해 합성되는 휘발성 대사물은 매우 다양한데 이 중 많은 부분을 fatty acid ester가 차지하고 있음을 알 수 있었다.

효모에 의해 생성되는 에스테르는 크게 끓는점을 기준으로 light, middle, heavy의 3부분으로 나눌 수 있는데 light fraction에는 isoamyl alcohol, ethyl, isobutyl, isoamyl acetate가 있으며 middle fraction에는 ethyl caproate, phenethyl acetate, ethyl caprylate, ethyl caprate 등이 있으며, heavy fraction의 ethyl fraction에는 ethyl myristate, ethyl palmitate, ethyl palmitoate가 있다. 그 중 middle fraction은 fruit ester라 불리며 포도주의 향에 매우 중요한 역할을 하는 에스테르로 알려져 있다[Suomalainen *et al.*(1978)]. 이는 대부분의 에스테르가 C₆~C₈의 탄소수를 가지는 저분자 휘발성 에스테르이므로 저장 중에 상당량의 에스테르가 휘발되기 때문에 보인다. Ethyl lactate, 2-phenylethyl acetate는 CM보다 NM 머루주에서 높은 함량을 보였으나, ethyl oleate와 ethyl linoleate는 껍질과 씨를 함께 발효시킨 머루주에서만 발견되었다.

Fig 5에서 총 에틸에스테르 함량을 발효기간 동안 관찰한 결과이다. CM과 NM의 ethylester는 발효동안 증가하다가 감소하는 추세이며, 82일째에 총 에틸에스테르 함량은 CM 보다는 NM의 경우 함량이 높은 것으로 나타났다.

Aldehyde, Furans, Phenol류

머루즙에는 furans류인 dihydro-2(3H)-furan, 2, 3-dihydrobenzofuran와 phenol류인 4-methoxymethylphenol는 검출되지 않았으며, CM 머루주에는 aldehyde류인 benzaldehyde 1개와, furans류인 dihydro-2(3H)-furan, 2, 3-dihydrobenzofuran 2개와 phenols류인 phenol, eugenol, 2,4-bis(1-methylethyl)-phenol, 4-methoxymethylphenol 4개 성분이 확인되어 총 7개 성분이 확인되었다. NM 머루주에는 aldehyde류인 benzaldehyde 1개, furans류인 dihydro-2(3H)-furan, 2, 3-dihydrobenzofuran 2개,

phenols류인 phenol, eugenol, 2개 성분이 확인되어 총 5개의 물질이 확인되었다.

Furan 유도체는 dihydro-2(3H)-furanone, 2,3-dihydrobenzofuran으로 식품의 향기 성분으로 매우 중요한 화합물로 알려져 있고 그 향기 특성은 달콤한 향기라고 하며, phenol류는 훈연취를 나타내는 성분이라고 밝혀져 있다 [Peynaud(1980)]. CM은 2.92%, 4.10%, 3.15%로 18일째 최대의 함량을 보이고 점차 감소하는 추세를 보였으나, NM은 0.32%, 0.67%, 1.20%로 증가 추세를 나타내었다.

관능검사

Table 3에서 머루주스로 발효시킨 CM 머루주와 머루 껍질과 씨를 함께 발효시킨 NM 머루주 관능검사를 실시한 결과이다. 색깔, 향기, 맛, 종합 평가 모두 유의 차이가 있었다($p < 0.05$). NM 머루주는 CM 머루주 보다 색깔과 향기는 강하나, 맛의 경우 CM 보다 낮은 기호도를 나타내어 내었으며 주로 신맛, 쓴맛, 떫은맛이 강하게 느껴진다고 표현하였다. 종합평가의 경우 CM이 NM보다 약간 높게 평가되었다. CM과 NM의 화학성분을 비교하여 보면 pH, 총산도, 알코올 함량, 환원당 모두 유의적 차가 없고, total phenolic 함량과 floral한 에스테르 향기성분의 함량에 유의성을 나타내었다. 고(2000)는 머루 껍질과 씨를 함께 발효시킨 머루주가 높은 superoxide radical 소거 효능이 있어 인체 내 항산화성 기능이 높음을 시사하였다. 또 백포도주의 경우 skin-contact 백포도주의 경우 phenolic compound의 함량 증가 및 관능검사에서도 바람직하다고 하였다[Darias-Martin *et al.* (2000)]. 본 실험의 결과를 보면, 관능검사에서 머루주의 쓴맛을 약간 줄일 수 있다면 색깔과 향이 보완되어 기호성과 기능성이 강한 머루주 제조가 가능하다는 것을 시사하였다. 본 실험의 경우 머루껍질과 씨를 발효가 끝날 때 까지 두었던 것을 발효중기에 머루씨의 껍질을 제거 후 발효시킨다면 건강 기능성도 높으며 떫은맛으로 인한 기호성의 단점을 보완할 수 있으리라 사료된다.

참고 문헌

1. Baumes, R., R. Cordonnier, S. Nitz, and F. Drawert(1986), Identification and determination of volatile constituents in wines from different vine cultivars, *J. Sci. Food Agric*, 37: 927-932 .
2. Cabaroglu, T., A. Canbas, R. Baumes, C. Bayonove, J.P. Lepoutre, and Z. Gunata(1997), Aroma composition of a white wine of *Vitis vinifera L. cv. Emir* as affected by skin contact, *J. Food Sci*, 62: 680-683.
3. Chisholm, M. G., L. A. Guiher, and S. M. Zaczkiwicz(1995), Aroma Characteristics of aged vidal blanc wine, *Am. J. Enol. Vitic*, 46: 56-62.
4. Cho, Y. H.(1995), 한국산 개량머루를 이용한 발효주의 개발, 농림수산부 보고서, Ministry of Agriculture, Forestry and Fishery Report
5. Cottrell, T. H. F. and M. R. McMellan(1986), The effect of fermentation temperature on chemical and sensory characteristics of wines from seven white grape cultivars growth in New York State, *Am. J. Enol. Vitic*, 37: 190-195.
6. Daudt, C. E. and C. S. Ough(1973), Variations in some volatile acetate esters formed during grape juice fermentation- Effects of fermentation temperature, SO₂, yeast strain, and grape variety, *Am. J. Enol. Vitic*, 24: 130-135.
7. Groat, M. and C. S. Ough(1978), Effects of insoluble solids added to clarified musts on fermentation red wine composition and wine quality, *Am. J. Enol. Vitic*, 46: 112-117.
8. Darias-Martin, J.J., Rodriguez, O., Diaz, E. and Lamuela-Raventos, R.M.(2000), Effect of skin contact on the antioxidant phenolics in white wine, *Food Chem*, 71:483-487.
9. Hwang, I. K. and Ahn, S. Y.(1975), Studies on the anthocyanins in wild vines(*Vitis amurensis Ruprecht*-Part 1, *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* 18: 183-187.
10. Hwang, I. K. and Ahn, S. Y.(1975), Studies on the anthocyanins in wild vines(*Vitis amurensis Ruprecht*- Part 2, *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* 18: 188-193.
11. Killian, E. and C.S. Ough(1979), Fermentation esters-Formation and Retention as affected by fermentation temperature, *Am. J. Enol. Vitic*, 24: 301-305.
12. Koh, K. H. and W. Y. Chang(1999), Changes of volatile flavor compounds of Seibell grape must during alcohol fermentation and aging, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27:491-499
13. Koh, K. H.(2000), Study on the improvement of moru-ju making and healthy functional activity, *Daesan Nonchong* 8: 193-205
14. Kotormán, M., M. L. Simon, and B. Szaĵáni (1991), Application of flow injection system in wine analysis, *J. Agric. Food Chem*, 39: 909-910.
15. Lee, C. H. Chae, S. K., Lee, J. K., Koh, K. H, and Son, H. S.(1999), Food evaluation and quality control, Yulim Publish Co., Korea.
16. Lee, Y. S., K. P. Lee, and J. S. Choi(1998), Volatile compounds of sparkling wine using immobilized yeast, *J. Korean Soc. Food Sci Nutr*, 27: 24-28.
17. Lopez, R. M., L. M. Libbey, B. T. Watson, and M. R. McDaniel(1992), Odor analysis of Pinot Noir wines from grapes of different maturities by a gas chromatography olfactometry technique (Osme), *J. Food Sci*, 57: 985-1019.
18. Nordstrom, K.(1964), Formation of esters from acids by brewer's yeast, II. Formation from lower fatty acids, *J. Inst. Brew.* 70: 42-55.
19. Nykänen, L. and I. Nykänen(1977), Production of esters by different yeast strains in sugar fermentation, *J. Inst. Brew.* 83: 30-31.
20. Nykänen, L., I. Nykänen, and H. Suomalainen (1977), Distribution of esters produced during sugar fermentation between the yeast cell and

- the medium, *J. Inst. Brew.* 83: 32-34.
21. Park, Y. H.(1975), Studies on the grape variety and the selection of yeast strain for wine-making in Korea, *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* 18: 219-227.
 22. Peynaud, E.(1980), *Le goût du vin*, Bordas, Paris, France.
 23. Presa-Owens, C., M. Lamuela-Raventos, S. Buxaderas, and M. C. Torre-Boronat(1995), Characterization of macabeo, xarel.lo, and parellada white wines from the Penedés region, *Am. J. Enol. Vitic.* 46:529-541.
 24. Salinas, M. R., G. L. Alonso, and F. J. Esteban (1994), Adsorption-Thermal desorption-Gas chromatography applied to the determination of wine aromas, *J. Agric. Food Chem.* 42: 1328-1331.
 25. Salinas, M. R., G. L. Alonso, G. Navarro, F. Pardo, J. Jimeno, and D. Huerta(1996), Evolution of the aromatic composition of wines undergoing carbonic maceration under different aging conditions, *Am. J. Enol. Vitic.* 47: 134-144.
 26. Schreier, P., Drawert, F. and Junker, A.(1976), Identification of volatile constituents from grapes, *J. Agric. Food Chem.* 24: 331-336.
 27. Shimoda, M., T. Shibamoto, and A. C. Noble. (1993), Evaluation of headspace volatiles of carbernet sauvignon wines samples by an on-column method, *J. Agric. Food Chem.* 41: 1664-1668.
 28. Shindo, S., J. Murakami, and S. Koshino(1992), Control of acetate ester formation during alcohol fermentation with immobilized yeast, *J. ferment. Bioeng.* 73:370-374.
 29. Soles, R. M., C. S. Ough, and R. E. Kunkee (1982), Ester concentration differences in wine fermentation by various species and strains of yeasts, *Am. J. Enol. Vitic.* 33: 94-98.
 30. Suomalainen, H. and M. Lehtonen(1978), The production of aroma compound by yeast, *J. Inst. Brew.*, 85: 149-156.
 31. Towey, J. P. and A. L. Waterhouse(1996), The extraction of volatile compounds from French and American oak barrels in chardonnay during three successive vintages, *Am. J. Enol. Vitic.* 47: 163-172.
 32. Villén, J., F. J. Senoráns, G. Reglero, and M. Herraiz(1995), Analysis of wine aroma by direct injection in gas chromatography without previous extraction, *J. Agric. Food Chem.* 43: 717-722.
 33. Yoo, J. Y., H. M. Seog, D.H. Shin, and B. Y. Min(1984), Enological characteristics of Korean grapes and quality evaluation of their wine, *Kor. J. Appl. Microiol. Bioeng.* 12: 185-190.
 34. Zoecklein, B. W., K. C. Fugelsang, B. H. Gump, and F. S. Nury.(1995), *Wine analysis and production*, Champman & Hall Publisher, USA.

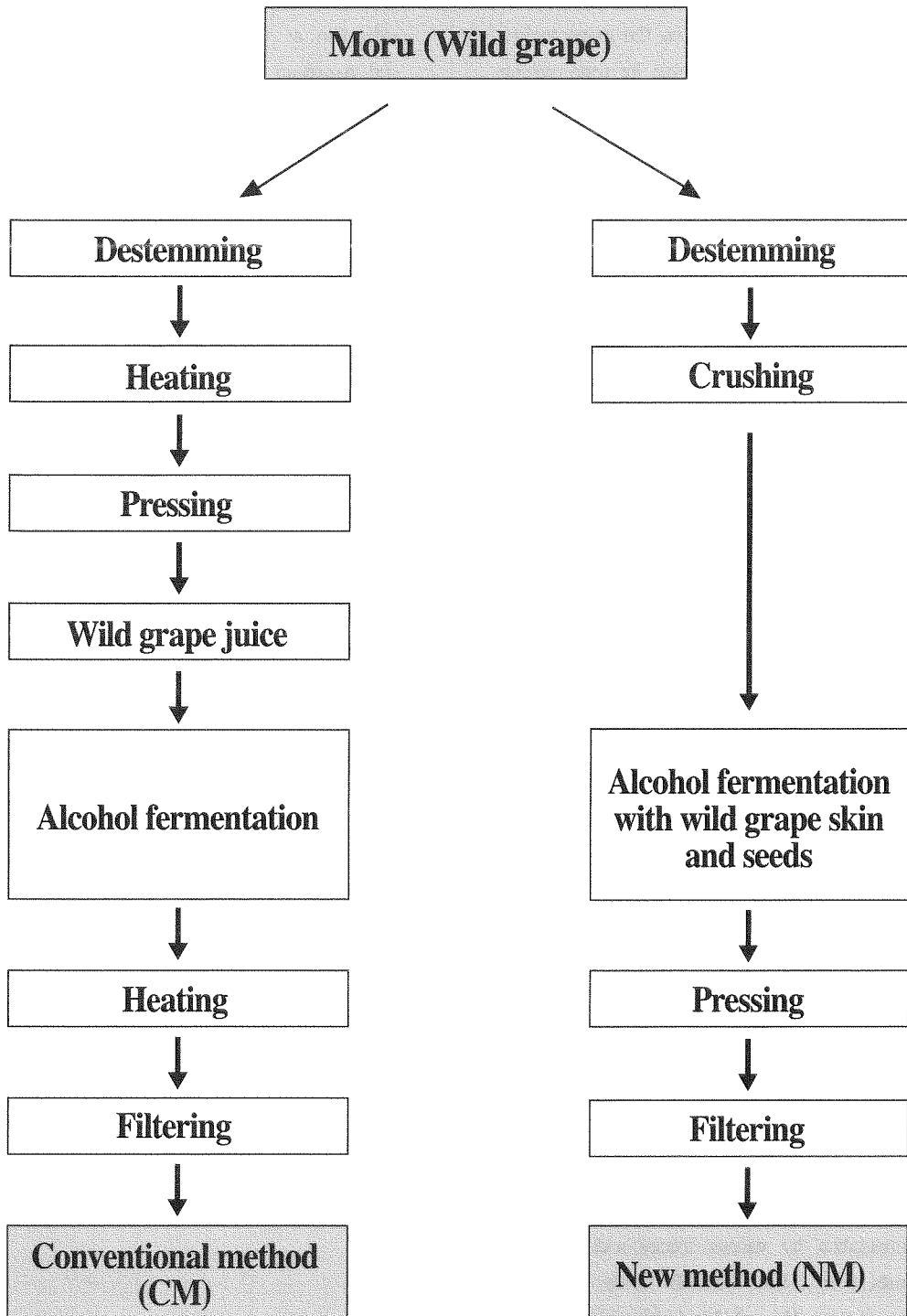


Fig. 1. Diagram of *moru-ju* making

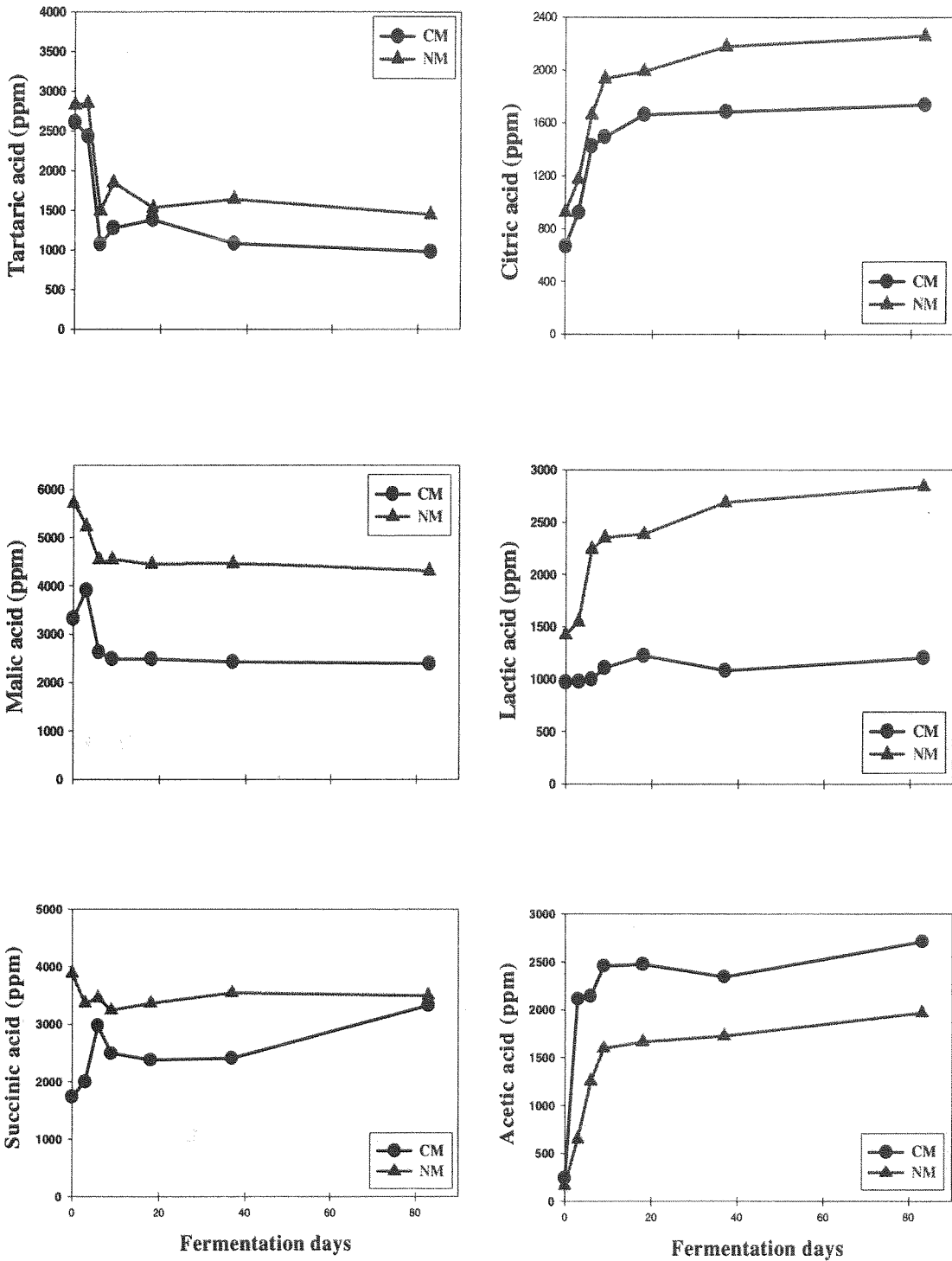


Fig. 2. Changes of organic acid content during fermentation.

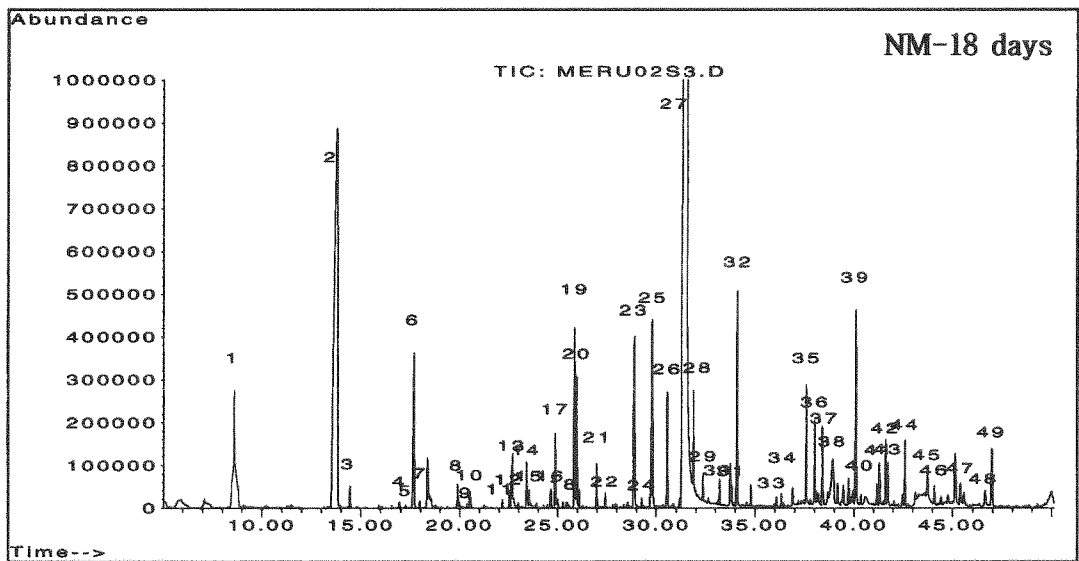
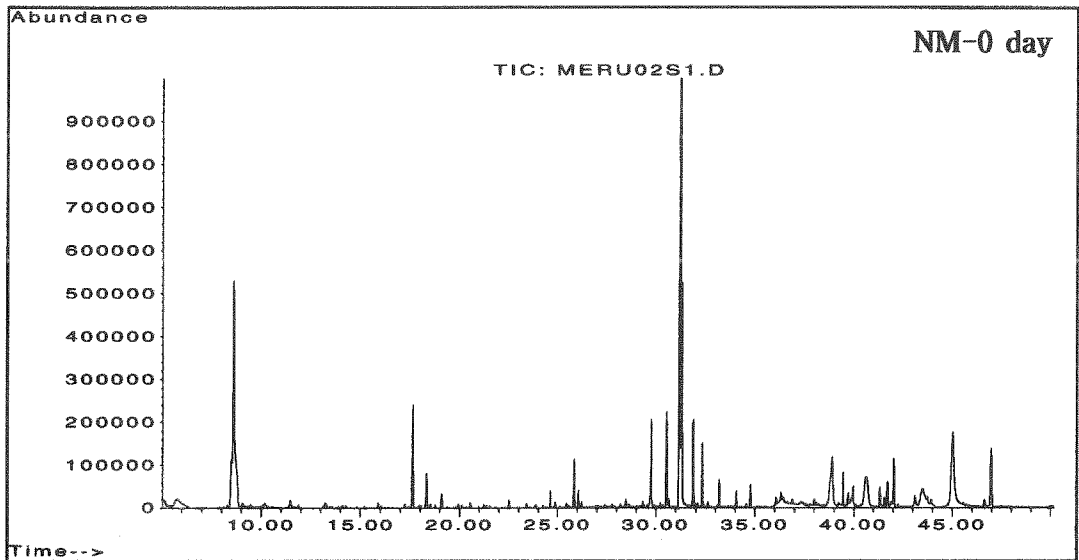


Fig. 3. Total ion chromatogram of *moru-ju*

NM-1: moru juice, NM-2: moru-ju

Table 1. Classification of volatile flavor compounds of CM *moru-ju*

unit : ppm								
Compound Name	Molecular Formula	Peak No.	RT	0 day	6 days	18 days	37 days	82 days
Acids(10)								
Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	10	20,555	0,000	0,068	0,124	0,132	0,096
Butyric acid	C ₄ H ₈ O ₂	17	24,898	0,022	0,100	0,148	0,129	0,089
n-Caproic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	25	29,764	0,249	0,592	0,707	0,557	0,462
2-Hexenoic acid	C ₆ H ₁₁ O ₂	29	32,365	0,090	0,055	0,039	0,031	0,029
Caprylic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	32	34,093	0,045	0,377	0,536	0,401	0,405
Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	33	36,103	0,026	0,034	0,028	0,042	0,015
n-Capric acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	36	38,025	0,017	0,092	0,181	0,127	0,132
Palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	38	38,934	0,000	0,287	0,494	0,321	0,077
Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	41	41,369	0,030	0,059	0,077	0,073	0,098
Myristic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	47	46,649	0,033	0,045	0,070	0,072	0,022
Sub Total				0,513	1,711	2,404	1,885	1,425
Alcohols(12)								
Isopentyl alcohol	C ₅ H ₁₂ O	2	13,551	0,076	3,921	4,378	4,339	3,403
3-Methyl-1-pentanol	C ₆ H ₁₄ O	4	16,953	0,000	0,022	0,031	0,027	0,022
1-Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	6	17,699	0,929	0,984	1,104	0,893	0,560
3-Hexen-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	7	18,342	0,023	0,105	0,131	0,111	0,097
1-Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	9	20,390	0,000	0,018	0,021	0,015	0,010
2,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	13	22,660	0,000	0,075	0,725	0,343	0,120
Ethyl carbitol	C ₅ H ₁₂ O ₃	15	23,901	0,000	0,011	0,022	0,029	0,012
Carbitol	C ₆ H ₁₄ O ₃	16	24,632	0,037	0,050	0,072	0,104	0,045
3-(methylthio)-1-propanol	C ₄ H ₉ O ₅	21	26,981	0,044	0,126	0,208	0,175	0,098
Benzylalcohol	C ₇ H ₈ O	26	30,554	0,074	0,084	0,188	0,161	0,161
Benzeneethanol	C ₈ H ₁₀ O	27	31,318	1,673	9,258	14,092	10,847	9,443
4-Methoxy-benzenepropanol	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	42	41,735	0,050	0,092	0,125	0,098	0,070
Sub Total				2,905	14,745	21,097	17,144	14,040
Aldehydes (1)								
Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	12	22,537	0,019	0,015	0,011	0,009	0,014
Sub Total				0,019	0,015	0,011	0,009	0,014
Esters (18)								
Ethyl caproate	C ₈ H ₁₆ O ₂	3	14,409	0,000	0,087	0,123	0,092	0,088
Ethyl lactate	C ₅ H ₁₀ O ₃	5	17,534	0,000	0,014	0,030	0,038	0,020
Ethyl caprylate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	8	19,898	0,000	0,055	0,142	0,093	0,070
3-Hydroxy ethyl butyrate	C ₆ H ₁₂ O ₃	11	22,181	0,000	0,010	0,022	0,019	0,007
2-Methyl propionate	C ₄ H ₈ O ₂	14	23,431	0,051	0,231	0,321	0,286	0,081
Isovaleric acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	19	25,864	0,108	0,354	0,533	0,430	0,283
Butanedioic acid, Diethyl ester	C ₈ H ₁₆ O ₄	20	25,952	0,000	0,148	0,161	0,148	0,218
Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	22	27,425	0,000	0,031	0,050	0,029	0,015
Ethyl valerate	C ₇ H ₁₄ O ₂	23	28,852	0,000	0,422	1,305	0,984	0,533
2-Phenylethyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	24	29,267	0,000	0,041	0,072	0,053	0,038
2-Ethyl caproate	C ₆ H ₁₄ O	28	31,889	0,148	0,304	0,356	0,308	0,321
Diethyl hydroxy butanedioic acid	C ₈ H ₁₆ O ₅	31	33,766	0,000	0,087	0,189	0,132	0,067
Ethyl palmitate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	35	37,598	0,000	0,235	0,374	0,149	0,023
Benzeneacetic acid, 2-propenyl ester	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	37	38,417	0,013	0,142	0,152	0,145	0,279
Butanedioic acid, diethyl ester	C ₈ H ₁₆ O ₄	39	40,108	0,000	0,272	0,667	0,575	0,528
Phenyl acetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	44	43,788	0,000	0,052	0,115	0,264	0,046
4-Hydroxy-3-methoxy-benzoic acid, ethyl ester	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	46	45,405	0,000	0,058	0,135	0,089	0,060
Butyl-2-methylpropyl-1,2-benzenedicarboxylic acid	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	48	46,971	0,084	0,205	0,274	0,256	0,073
Sub Total				0,404	2,749	5,020	4,090	2,752
Furans (2)								
Dihydro-2(3H)-furanone	C ₄ H ₆ O ₂	18	25,081	0,000	0,033	0,060	0,034	0,025
2,3-Dihydrobenzofuran	C ₈ H ₈ O	40	40,360	0,000	0,118	0,162	0,092	0,302
Sub Total				0,000	0,151	0,222	0,127	0,327
Phenols (4)								
Phenol	C ₆ H ₆ O	30	33,224	0,045	0,045	0,084	0,068	0,032
Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	34	36,344	0,012	0,043	0,038	0,029	0,029
2,4-Bis(1-methylethyl)-phenol	C ₉ H ₁₈ O	43	42,050	0,039	0,147	0,138	0,165	0,120
4-Methoxymethylphenol	C ₈ H ₁₀ O ₂	45	45,170	0,000	0,262	0,726	0,500	0,069
Sub Total				0,096	0,498	0,986	0,762	0,251
Total				3,937	19,868	29,742	24,018	18,809

Table 2. Classification of volatile flavor compounds of NM *moru-ju*

unit : ppm

Compound Name	Molecular Formula	Peak No.	RT	0 day	6 days	18 days	37 days	82 days
Acids (10)								
Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	10	20.500	0.000	0.074	0.101	0.059	0.076
Butyric acid	C ₄ H ₈ O ₂	17	24.881	0.012	0.219	0.217	0.150	0.151
n-Caproic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	25	29.747	0.164	0.897	0.657	0.726	0.641
2-Hexenoic acid	C ₆ H ₁₀ O ₂	29	32.345	0.103	0.073	0.085	0.063	0.086
Caprylic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	32	34.079	0.029	0.652	0.590	0.646	0.562
Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	33	36.089	0.015	0.032	0.024	0.035	0.028
n-Capric acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	36	38.009	0.012	0.264	0.229	0.239	0.199
Palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	38	38.908	0.321	0.489	0.465	0.298	0.402
Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	41	41.324	0.046	0.178	0.186	0.180	0.192
Lauric acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	43	41.723	0.070	0.194	0.121	0.187	0.120
Myristic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	48	46.629	0.018	0.097	0.037	0.081	0.041
Alcohols (12)								
Isopentyl alcohol	C ₆ H ₁₂ O	2	13.575	0.000	5.061	5.076	4.606	4.826
3-Methyl-1-pentanol	C ₆ H ₁₄ O	4	16.943	0.000	0.021	0.024	0.022	0.024
1-Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	6	17.654	0.229	0.652	0.554	0.565	0.562
3-Hexen-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	7	18.343	0.068	0.233	0.110	0.094	0.076
1-Hepatanol	C ₇ H ₁₆ O	9	20.387	0.000	0.016	0.012	0.014	0.013
2,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	13	22.699	0.000	0.293	0.307	0.198	0.161
Ethyl carbitol	C ₆ H ₁₂ O ₃	15	23.830	0.008	0.031	0.018	0.013	0.013
Carbitol	C ₆ H ₁₄ O ₃	16	24.625	0.027	0.072	0.050	0.063	0.039
3-(methylthio)-1-propanol	C ₇ H ₁₆ O ₂	21	26.974	0.000	0.131	0.128	0.038	0.034
Benzylalcohol	C ₇ H ₈ O	26	30.544	0.165	0.347	0.312	0.310	0.266
Benzeneethanol	C ₈ H ₁₀ O	27	31.300	2.383	21.116	14.945	14.698	11.901
Sub Total				2.880	27.974	21.536	20.621	17.915
Aldehydes (1)								
Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	12	22.533	0.014	0.050	0.033	0.032	0.037
Sub Total				0.014	0.050	0.033	0.032	0.037
Esters (18)								
Ethyl caproate	C ₈ H ₁₆ O ₂	3	14.434	0.000	0.066	0.114	0.116	0.116
Ethyl lactate	C ₅ H ₁₀ O ₃	5	17.500	0.000	0.004	0.004	0.004	0.007
Ethyl caprylate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	8	19.966	0.000	0.064	0.153	0.154	0.141
3-Hydroxy ethyl butyrate	C ₆ H ₁₂ O ₃	11	22.174	0.000	0.024	0.024	0.020	0.021
2-Methyl propionate	C ₄ H ₈ O ₂	14	23.420	0.007	0.173	0.129	0.121	0.124
Isovaleric acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	19	25.852	0.093	0.669	0.487	0.487	0.464
Butanedioic acid, Diethyl ester	C ₈ H ₁₆ O ₄	20	25.942	0.000	0.392	0.198	0.277	0.336
Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	22	27.407	0.000	0.042	0.038	0.025	0.019
Ethyl valerate	C ₇ H ₁₄ O ₂	23	28.833	0.000	0.806	0.835	0.710	0.533
2-Phenylethyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	24	29.267	0.000	0.036	0.037	0.028	0.026
2-Ethyl caproate	C ₆ H ₁₄ O ₂	28	31.875	0.140	0.342	0.490	0.400	0.320
Diethyl hydroxy butandioic acid	C ₈ H ₁₆ O ₅	31	33.756	0.000	0.173	0.206	0.254	0.163
Ethyl palmitate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	35	37.579	0.000	0.389	0.174	0.323	0.064
Benzeneacetic acid, 2-propenyl ester	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	37	38.397	0.000	0.259	0.166	0.225	0.212
Butanedioic acid, diethyl ester	C ₈ H ₁₆ O ₄	39	40.077	0.000	0.689	0.735	0.757	0.671
Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	42	41.562	0.017	0.208	0.095	0.185	0.047
Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	44	42.041	0.092	0.027	0.161	0.069	0.051
Phenyl acetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	45	43.748	0.020	0.191	0.081	0.157	0.121
Methyl linolenate	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	46	44.076	0.000	0.067	0.054	0.058	0.090
4-Hydroxy-3-methoxy-benzoic acid, ethyl ester	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	47	45.384	0.000	0.110	0.122	0.216	0.166
Butyl-2-methylpropyl-1,2-benzenedicarboxylic acid	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	49	46.964	0.171	0.280	0.136	0.265	0.171
Sub Total				0.541	5.009	4.440	4.852	3.862
Furans (2)								
Dihydro-2(3H)-furanone	C ₄ H ₆ O ₂	18	24.980	0.000	0.044	0.052	0.062	0.040
2,3-Dihydrobenzofuran	C ₈ H ₈ O	40	40.342	0.000	0.045	0.184	0.207	0.139
Sub Total				0.0000	0.088	0.236	0.269	0.180
Phenols (4)								
Phenol	C ₆ H ₆ O	30	33.211	0.047	0.072	0.037	0.036	0.055
Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	34	36.337	0.050	0.036	0.043	0.066	0.070
Sub Total				0.097	0.107	0.080	0.102	0.126
Total				3.937	19.868	29.742	24.018	18.809

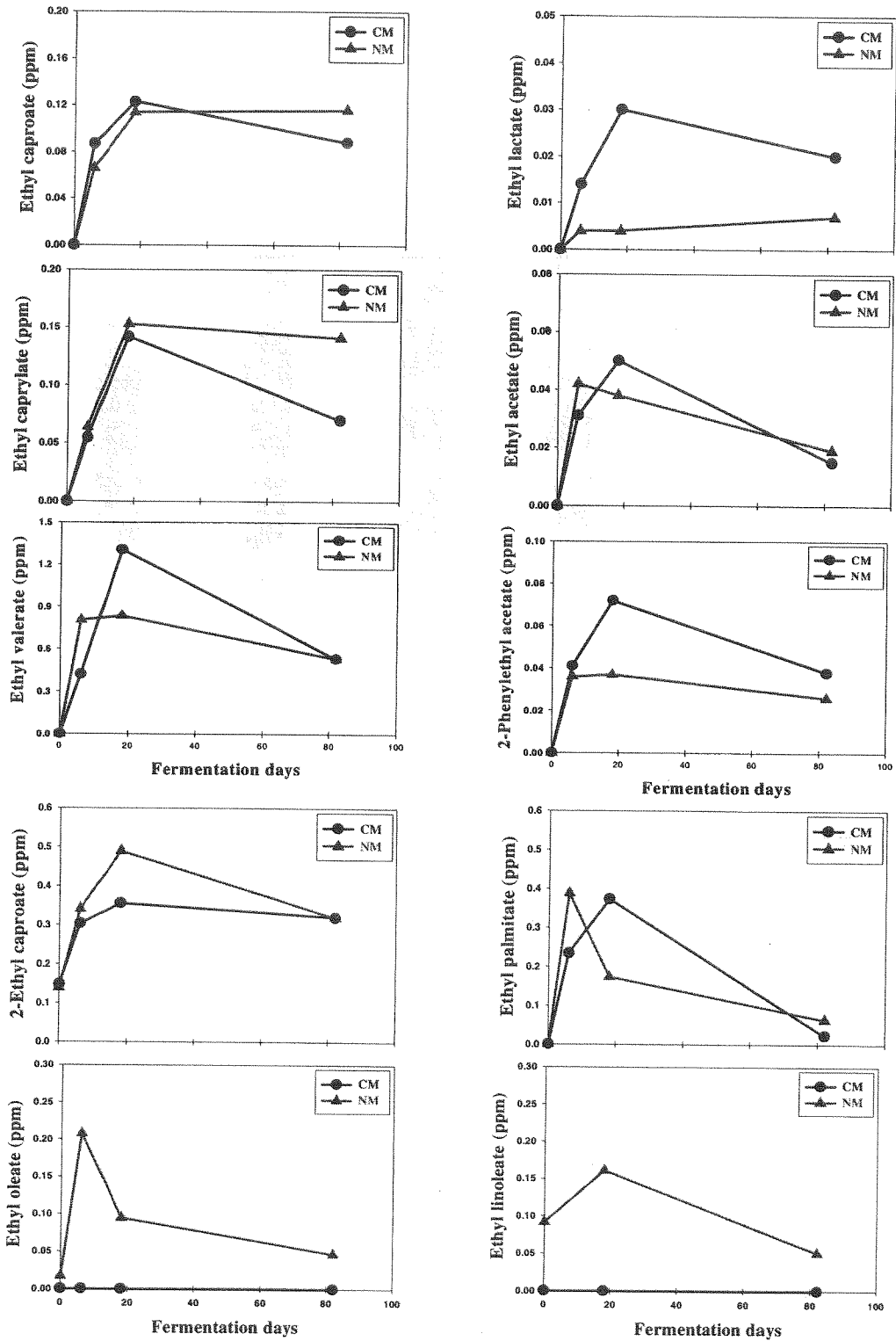
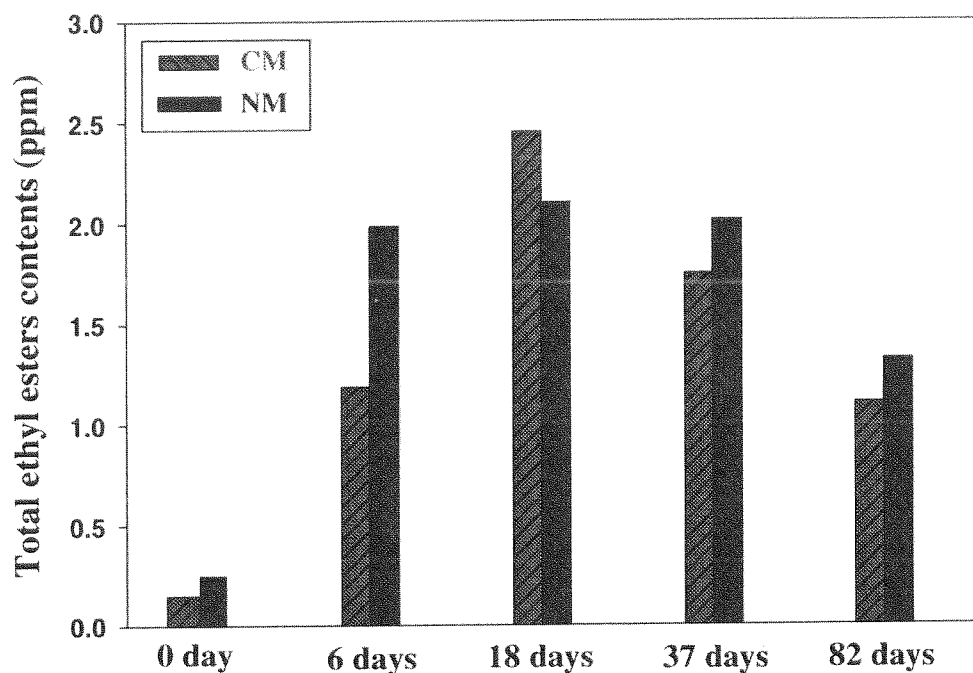


Fig. 4. Changes of ethyl esters content of *moru-ju*.

Fig. 5. Changes of total ethyl esters content of *moru-ju*.Table. 3 Mean scores on sensory evaluation of *moru-ju*

	CM	NM
Color**	3.20 ± 1.50	3.80 ± 1.02
Flavor	3.02 ± 1.31	3.56 ± 1.12
Taste**	4.33 ± 1.55	3.90 ± 1.53
Total Evaluation*	4.50 ± 1.142	3.92 ± 1.47
pH	3.4	3.3
Total acidity(g/L)	4.5	4.7
Ethanol (%)	12.0	12.6
Reducing sugar (g/L)	<2 g/L	<2 g/L
Total phenolic content (mg/L)	3120	3520

1) Mean score of 12 assessors.

2) Sensory characteristics were rated on 5-point scale: dislike extremely(1), like extremely(5).

3) Mean within rows followed are significantly different at 5%(*) or 1%(**) level by two paired test.