

와인의 산미와 침전/ 와인제조를 지탱하는 신기술: 만노단백질

A Sour Taste and Sediment of Wine/ Technology for the Wine Manufacture: Mannoprotein

김혜련 | 우리술연구센터

Hye-Ryun Kim | Korean Alcoholic Beverage Research Center

서론

와인의 어원은 라틴어인 '비넘(vinum)'으로 포도나무로부터 만든 술이라는 의미로서, 세계 여러 나라에서 와인을 뜻하는 말로 이탈리아의 비노(vino), 독일의 바인(wein), 프랑스의 뱅(vin), 미국과 영국의 와인(wine) 등이 있다. 넓은 의미에서 와인은 과실을 발효시켜 만든 알코올 함유 음료를 말하지만 일반적으로 신선한 천연 과일인 순수한 포도만을 원료로 발효시켜 만든 포도주를 의미하며 우리나라 주세법에서도 역시 과실주의 일종으로 정의하고 있다. 또한 와인은 제조과정에서 물이 전혀 첨가되지 않으면서도 알코올 함량이 적고, 유기산, 무기질 등이 파괴되지 않은 포도 성분이 그대로 살아있는 술이다. 실제로 와인의 성분을 분석하면 수분 85%, 알코올 12% 정도이고, 나머지는 당분, 비타민, 유기산, 각종 미네랄, 폴리페놀 등으로 나누어진다. 그러므로 와인의 맛은 원료인 포도가 자란 지역의 토질, 기온, 강수량, 일조시간 등

자연적인 조건과 인위적인 조건인 포도 재배방법, 양조법에 따라 달라진다.

와인은 이와 같은 자연성, 순수성 때문에 기원전부터 인류에게 사랑받아 왔으며, 현대에 이르러서도 일상적인 식생활에서 음료로서 맛과 분위기를 돋우고 더 나아가 서구 문명의 중요한 부분을 차지하고 있다. 특히 와인이 전 세계적으로 인기를 누리고 있는 이유는 전체 양의 1%도 차지하지 않는 폴리페놀이라는 항산화물질을 인간의 몸에 이롭다고 부각시키는 잘 짜인 각본도 한 몫을 차지하고 있다고 생각한다. 최근 해외판 토픽에는 다음과 같은 기사가 실렸다. "포도주를 마시지 않으면 잠을 못 이루는 돼지가 있어 화제다. 이탈리아 북부 크레모나 시의 마리오씨가 키우는 찰리라는 돼지가 화제의 주인공이다. 이 돼지는 매일 밤 자기 전에 주인이 따라주는 이 지역 특산 람브루스코 포도주를 한 잔 마셔야 편안한 잠을 이룰 수 있다고 티킴 인터넷 신문이 보도했다. 찰리는 마리오씨가 아들 생일에 선물한 갓 난 아기돼지로 처음 이 집

에 왔을 때는 불과 7 kg에 불과해 집 안에서 애완 견처럼 키웠다. 그러나 급속하게 자라난 찰리는 이제 600 kg에 육박해 더는 집안에서는 키울 수가 없어 밖에서 토끼, 염소들과 같이 지내고 있다.” 이와 같은 전략은 우리의 전통주에서도 요구되는 부분이다. 최근 호황을 누리고 있는 막걸리의 유기산 성분이나 전통적인 약주의 기능성을 부각시켜 우리 술의 세계 진출을 기대해 본다. 따라서 본고에서는 와인에서 산미에 관여하는 유기산과 문제점의 하나인 침전현상의 해결방법에 대해 살펴보고자 한다.

와인에 있어서 유기산의 중요성

와인은 포도를 으개서 단순히 발효시킨 상당히 원시적인 술 중의 하나로 제법은 단순하다. White wine은 포도를 압착하여 과즙을 얻은 후 효모를 첨가하여 발효시킨다. 또한 red wine은 포도를 으

깨 효모를 사용해 발효시킨 후 압착한다(fig. 1).

이와 같이 단순한 발효과정에 비해 와인은 상당히 많은 성분을 함유하고 있으며, 향만으로 양조에 사용된 포도의 품종식별이 가능할 정도로 식품으로서도 깊이가 있다. 와인 이외에도 양조주로 불리는 주류가 몇 가지 있지만, 국내에서 많이 유통되고 있는 것은 청주와 맥주라고 생각한다. 이들 주류의 평균적인 성분을 비교하면, 와인은 산도가 비교적 높으며 폴리페놀이 많은 것을 특징으로 들 수 있다. 와인을 마셨을 경우 그 산미를 느끼는 경우는 적지만, 와인의 맛에 있어서 산미가 상당히 중요한 요소가 되는 것만은 틀림이 없다. 또한 많은 양조주가 발효를 종료한 후 가능한 빨리 소비되고 있는 것에 반해, 와인은 양조주 중에서는 이례적으로 수명이 긴 주류이다. 와인의 pH는 3~4 정도로 상당히 낮고 12% 정도의 에탄올을 함유하고 있어서 미생물학적으로는 상당히 안정한 상태로 되어있다. 이것도 와인의 산도가 중요한 이유가 되고 있다. 산

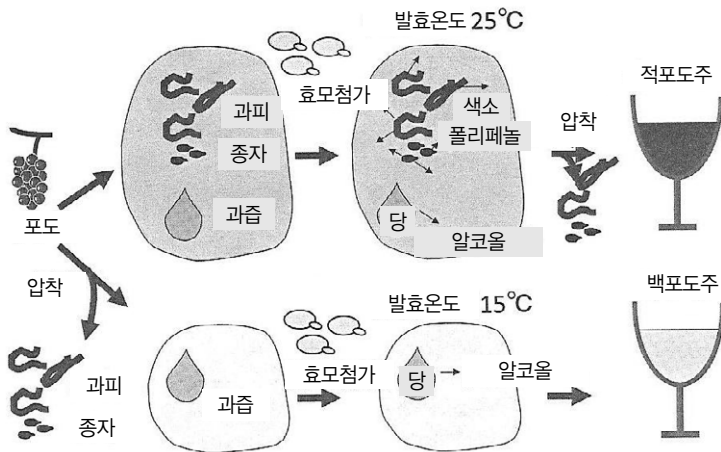


Fig. 1. Common process of the wine

도가 높은 덕분에 평균치리를 하지 않아도 수십 년이 지난 와인은 썩지 않고 안정되게 존재할 수 있는 것이다. 이처럼 와인의 산도는 맛, 미생물학적 안정성, 화학적 안정성의 3가지 부분에서 와인의 성분으로서 중요하다.

유기산의 유래

와인의 산도는 대부분 유기산에서 유래하고 있다. 이 유기산은 원료인 포도에서 유래한 것과 발효과정에서 효모나 유산균이 작용한 유기산으로 크게 구별된다. 포도가 함유하고 있는 유기산 중에서는 주석산(tartaric acid)과 사과산(malic acid)이 중요하다.

Fig. 2는 포도 숙성 중의 유기산의 경시변화를 나타낸 것이다. 당도가 증가하기 전, 포도 자체는 단단하고 녹색으로 상당히 산이 강한 상태이다. 이

시기는 사과산이 상당히 많이 함유되어 있고 그 농도는 3% 정도가 된다. 그 후, 당 농도가 증가하기 시작하면 과실은 연화된다. 이 시기에 사과산의 농도가 급격히 낮아지며 포도과실이 크기 때문에 희석효과에 의해 그 농도가 감소하고, 한편으로 포도의 호흡에 의한 사과산의 소비도 증가하게 된다. 한편, 포도의 특징적인 산으로 알려진 주석산은 아스코르빈산(ascorbic acid)을 전구물질로 해서 생합성 되는 것으로 알려져 있다. 사과산과 같이 미숙한 과실에서의 주석산 농도는 높지만 과실이 숙성하면서 농도는 낮아지고 차갑고 서늘한 기후에서는 주석산 농도가 높다고 알려져 있다. 주석산은 비교적 강한 유기산으로 과실 상태일 때 보다 와인일 때 PH가 낮은데 영향을 준다. 이러한 유기산의 양과 비율은 와인의 맛을 결정하는데 중요한 요인이 되며 이들의 합계량이 0.7~0.8% 정도 되는 것이 이상적이라고 말한다. 한편, 12~13%의 에탄올을 만드는데 필요한 당도는 22~23% 정도이다. 수확기

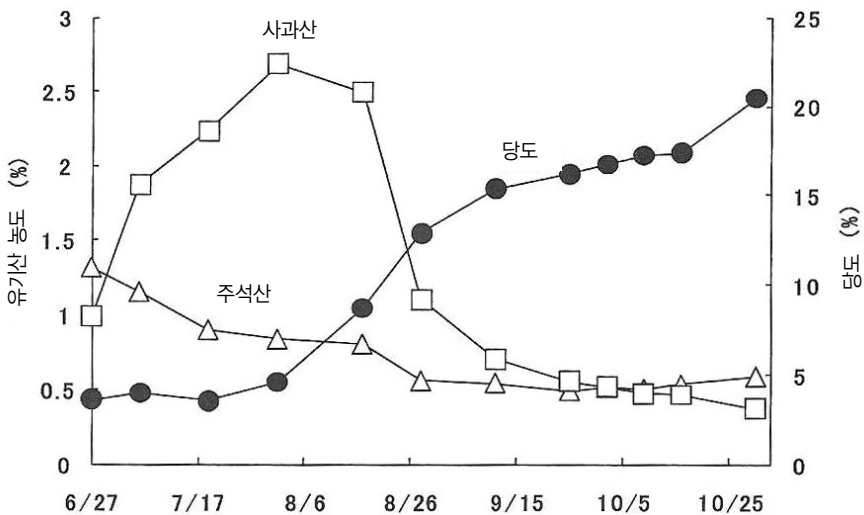


Fig. 2. Changes of sugar content and organic acids during aging of the wine

에 이들의 밸런스가 정확히 맞는 것이 좋지만, 실제적으로 이와 같은 상황이 되는 경우는 적다. 기온이 높은 지방에서는 산의 농도가 급속히 감소하고 당도가 올라가지 않는 경우가 많은 반면에 추운 지방에서는 산도가 떨어지지만 산미가 증가하는 경우도 있다. 이렇게 기후적인 요인을 놓고 볼 때, 독일산 포도주에서 주석산염의 침강이 자주 일어나는 것은 서늘한 지역에서 생산되었기 때문에 주석산을 보다 많이 함유하고 있으며 완숙과정에서 산의 분해도 약하기 때문이다. 이와 같은 유기산과 당(glucose, fructose)을 함유하는 과즙에 효모를 첨가하고 와인을 제조한다. 보통 발효에서 효모의 대사에 의해 피루브산(pyruvic acid)이나 호박산(succinic acid) 등이 생성되지만, 양은 비교적 소량이다. 한편, 발효 종료 후에 유산균이 증식하면 사과산이 대사되어 젖산(lactic acid)으로 변화한다. 사과산은 이염기산(carboxyl 기가 2개 있다)이지만, 젖산은 일염기산(monobasic acid)이기 때문에, 유산균이 증식하면 와인의 산도가 내려가게 된다. 이와 같은 젖산균에 의한 발효를 말로락티발효(malolactic fermentation, MLF)라고 하고, 버터와 같은 특징적인 향기(flavor)가 부여되기 때문에 red wine 제조에서 유산균을 첨가하여 인위적인 MLF를 유발하고 와인의 부가가치를 높이는 경우가 많

아지고 있다. 한편, sharp하고 끊기는 좋은 산미가 있는 white wine에서 MLF를 시행하면 과즙 유래의 사과산과 주석산이 와인의 맛을 결정하게 된다.

와인 중의 유기산과 그 침전기구

위와 같이 양조 중에 MLF가 일어나느냐 아니냐에 따라 사과산의 함량은 변화하지만, 와인 중의 주요한 유기산은 주석산과 사과산(혹은 젖산)이다. 사과산과 주석산은 이염기산이기 때문에 이온화 상태에서 세 개의 상태로 존재한다(fig. 3).

와인의 pH는 3~4정도이기 때문에, pKa 1이 비교적 높은 사과산에서는 이온화하지 않은 산이 많다고 생각된다. 한편, 주석산은 pKa 1이 3.01로 낮기 때문에, 와인의 pH에서 카르복실기(carboxyl)의 일부분이 이온화된 상태로 존재하는 경우가 많다. 또한 와인 중에는 칼슘, 나트륨, 칼륨과 같은 금속 이온이 존재한다. 이러한 금속 이온의 양은 토양이나 비료, 수분에 의해 변화하지만, 칼륨(0.5~2 g/L), 칼슘(80~140 mg/L), 나트륨(10~40 mg/L), 마그네슘(60~150 mg/L)이 표준적인 양이다.

유기산류와 금속 이온은 결합해서 염을 만들고 그 용해도에 의해 침전이 생성된다. 사과산염과 주

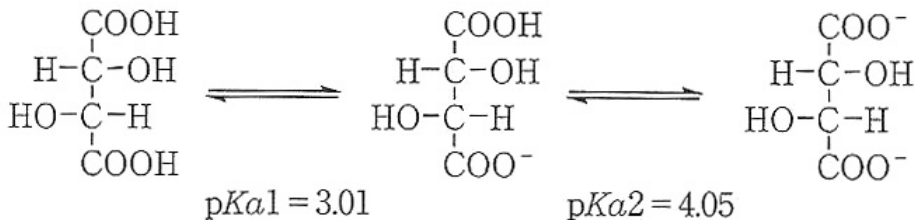


Fig. 3. Ionization of tartaric acid

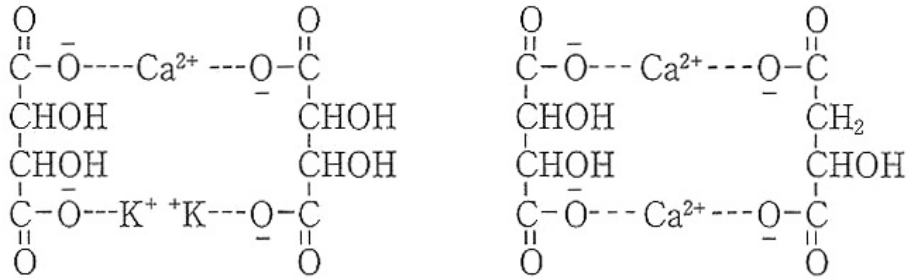


Fig. 4. The organic acid salts in the wine

석산염은 이염기산이기 때문에 복잡한 염이 형성되는 경우도 있다(fig. 4).

주석산칼슘(calcium tartrate)은 용해도가 낮고 (0.53 g/L) 빨리 침전된다. 한편, 양적으로는 주석산수소칼륨(potassium bitartrate, KHT)이 많이 존재한다. 반면에 칼륨농도 780 mg/L 와인에서는 3.76 g/L 주석산수소칼륨이 존재하게 된다. 그러나 주석산수소칼륨의 10% 에탄올 용액 중에서의 용해도는 2.9 g/L이므로 많은 KHT가 침전하는 상황이 된다. 용해도를 뛰어넘는 과도한 염은 침전되는 것이 당연하지만, 와인 중에서 이들은 과포화 상태로 용해한 채 존재하는 것으로 알려져 있다. 이 상태에서 병입하면 그 후의 작은 변화에도 병 내에서

급격한 주석산염이 석출될 가능성이 있다.

주석산 안정화의 필요성 조사

역사적으로 제2차 세계대전 중 포도나 와인의 주석산수소칼륨(potassium bitartrate)을 취해서 주석산칼륨나트륨(potassium sodium tartrate, rochelle salt)을 만들어 마이크나 이어폰, 잠수함의 수중음파탐지기(sonar) 등의 압력소자에 이용하였다고 하여, 전시 중에도 포도나 와인산업은 군사적인 보호를 받았다고 알려져 있다. Fig. 5는 병 밑 부분에 침전된 주석산염의 사진이다. 이러한 침전의

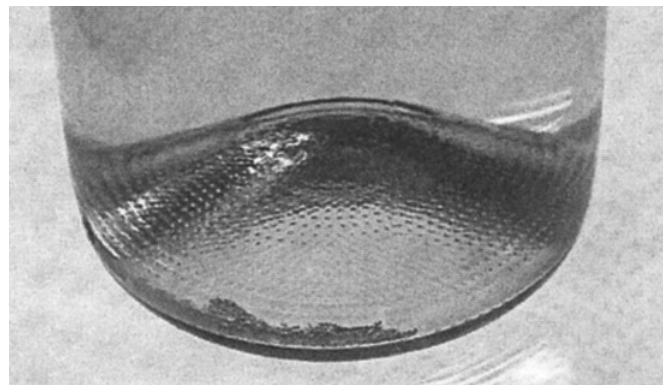


Fig. 5. The crystals of potassium bitartrate precipitated on the bottom

주성분은 주석산수소칼륨(KHT)으로 그 외의 성분도 소량 함유되어 있다. 주석산염은 포도의 주석산이 칼슘이나 칼륨 이온과 결합하여 만들어진 것으로 사람의 인체에는 무해하다. 그러나 와인같이 알코올과 수분이 섞여있는 용액에는 부분적으로만 녹기 때문에 문제가 된다. 즉, 과포화 된 나머지는 일정한 화학적 반응을 일으켜 결정화(tartrate) 되는 것이다. 그러나 와인산업에 있어서 병 내부의 결정을 석출하는 것은 상당히 큰 문제가 되었다. 병입 전의 와인이 투명해도 출하 후의 병 내부에서 결정이 석출하는 것이 곤란한 점이다. 식품 유래의 성분이며 결정을 먹어도 문제는 없지만 와인의 맛을 떨어뜨리게 된다. 결정이 상당히 예쁜 경우, 이것은 유리 파편처럼 보이는 경우도 있고 claim의 대상이 되기도 한다. 그래서 많은 winery에서는 KHT가 석출되지 않도록 '안정화처리'를 하고 있으나 안정화처리가 많은 경우 종합적인 품질의 노화를 부른다. 최근 이러한 안정화처리 방법은 다양하게 변하고 있다.

장기적으로 주석산염이 석출될 가능성이 있는 경우, claim 처리를 꺼려하는 제조 기업에서는 여러 가지 수단으로 주석산염이 석출되지 않도록 방안을 세우고 있다(안정화처리, stabilization). 보통은 주석산 농도를 감소시키는 것이다. 그러나 앞에서 기술한 것처럼 와인 중의 주석산 농도가 와인의 맛을 크게 좌우할 가능성이 있으므로 주석산 농도를 인위적으로 감소시켜서 제조된 와인의 맛을 변화시키는 것은 좋지 않다. 따라서 우선 병입 전에 와인 중의 주석산 상태를 조사하고 후에 그 와인에서 주석산염 결정이 나올 것인가를 조사하여 필요한 경우에만 안정화처리를 한다. 주석산염은 포도 품종에 따라서도 차이가 있다. 예컨대, Jerez를 만드는 Palomino 품종은 주석산을 많이 함유하고 있는데

비해, Pinot noir나 Malbec 같은 품종은 비교적 적은 양을 함유하고 있다. 세계적인 winery에서도 같은 문제를 안고 있기 때문에, 안정화처리의 필요여부를 조사하기 위해 상당히 많은 방법이 고안되고 있다. 국내에서 가장 많이 보급되어있는 방법은 제조 후 와인을 소량 취하여 보통의 냉동차(-18℃)에서 하룻밤 냉각하는 칠링기법이나 이 작업에서 침전이 생기는 것은 불안정하다고 판단한다. -4℃ freezer에서 1주일에 걸쳐 체크하는 방법도 알려져 있다. 이 경우 2~3일에서 결정이 석출되면 다소 불안정한 와인이며, 1주일 경과 후에도 결정이 나오지 않은 경우는 안정화처리를 필요로 하지 않는다고 판단한다. 그 외 인위적으로 KHT 결정을 결정핵으로 해서 와인에 첨가하고 냉각 후 여과 처리하여 결정의 중량을 측정하고 증가여부를 조사하는 방법, 전기전도도를 측정하는 방법, 실험에 의해서 얻어진 data를 해석하고 보다 상세한 정보를 얻기 위한 software까지 개발되고 있다. 이러한 노력의 존재로 와인산업에 있어서 주석산염의 석출이 얼마나 중요한 문제가 되고 있는가를 엿볼 수 있다.

주석산 안정화처리 방법

안정화가 필요하다고 판단된 와인은 병입 전에 안정화처리를 한다. 안정화처리법은 주석산염을 제거하는 방법과 결정의 생성을 저해하는 방법으로 크게 구별할 수 있다.

국내에 가장 보급된 방법은 '냉각안정화처리'라고 생각된다. 이 방법은 tank 내의 와인을 냉각하고 -4℃에서 1주일 정도 방치하는 것으로 침전 가능성이 있는 주석산염을 저온에 의해 제거한다.

山梨(아마나시)의 경우, 겨울철 실외 기온이 이 정도가 되므로, '월동' 하게 되면 많은 와인은 안정화 처리를 할 필요가 없을 정도가 된다. 그러나 인위적으로 냉각할 것인지 자연적으로 냉각할 것인지를 구별해서 와인을 냉각하게 되면 용존산소농도가 증가한다. 냉각 중에 와인에 용해되는 산소는 냉각 종료 후 산화를 일으킨다고 알려져 있다. 실제로 이처럼 오랜 기간 냉각처리를 하면 와인의 색조가 악화되는 것으로 보고되고 있다. Winery 현장에서도 주질이 저하되는 의견이 들리고 있다. 장기간 와인을 냉각하지 않기 위해서는 결정핵이 되는 KHT를 첨가해서 냉각처리를 하는 방법도 개발되어 있다. 이러한 경우, 처리기간이 짧아질 뿐만 아니라 처리온도도 -2℃ 정도가 되면 된다. 그러나 냉각안정화처리의 가장 큰 문제점은 전기량이다. 큰 tank의 와인을 마이너스 온도에서 장기간 냉각하기 위해서는 다량의 전기에너지가 필요하다. Winery에서 사용되는 전기의 반 이상이 냉각안정화처리에 소비된다는 계산이 있을 정도이다. 또한

냉각안정화처리에 필요한 시간이 긴 것도 문제가 되고 있다. 많은 종류의 와인을 제조하는 winery에서는 냉각설비에 각각 구별해서 와인을 넣어 처리할 필요가 있어서, 4종류 와인을 처리하는데 1개월도 더 걸리는 경우도 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해서 연속식 처리장치 등도 개발되고 있다. 또한 전기투석법도 이용되고 있는데 이는 이온선택투과성을 갖는 막을 이용해서 전기적으로 이온을 제거하는 기술이다. 칼륨, 칼슘 등 주석산과 침전을 일으킬 가능성이 있는 이온을 주석산과 동시에 제거할 수 있기 때문에 이후의 발전이 기대되고 있다. 현재는 비용 문제 등으로 해외에서도 비교적 큰 winery에서만 사용되고 있다.

한편, 주석산염을 제거하지 않고 결정의 성장을 저해하는 기술도 있다. 결정성장 구조는 KHT 분자의 회합에 의한 cluster 형성에 의한 결정핵생성, 결정의 성장 단계를 일으킨다. 이러한 단계를 저해하는 것으로 결정의 석출을 방지하는 기술이 있다. 유럽에서는 메타주석산(fig. 6) 사용이 행해지고 있

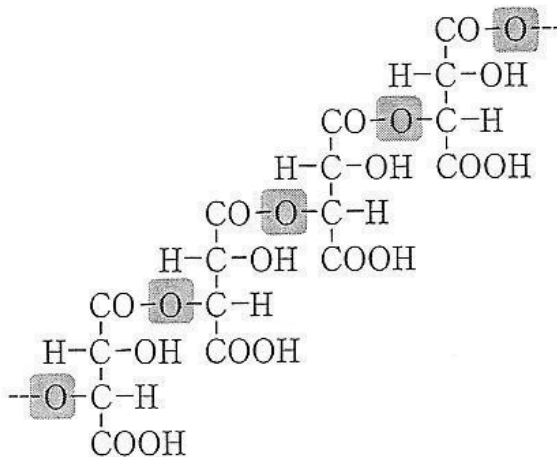


Fig. 6. The structure of meta tartaric acid

다. 메타주석산은 주석산이 분자 간 에너지 결합한 polymer로서 결정핵의 성장을 저해한다고 알려져 있다. 메타주석산에는 주석산염 석출방지효과가 있지만, 산성 용액 중에서는 불안정하고 가수분해되어 몇 개월 만에 효과가 없어져 버린다. 와인은 산성이고 저장해서 먹는 음식이기 때문에, 메타주석산의 사용은 실용성에 문제가 있다. 이와 같은 주석산염 석출 저해효과를 갖는 것으로 만노단백질이 있다.

만노단백질의 유용성

효모의 세포벽은 mannoprotein, chitin, β -(1,3)-D-glucan, β -(1,6)-D-glucan으로 이루어져 있으며 이 모든 4개의 구성성분들은 서로 복잡하게 연결되어 있다. 그 중에서도 mannoprotein과 β -(1,3)-D-glucan 사이의 연결이 가장 중심적인 역할을 한다. 효모 세포벽의 만노단백질(mannoprotein)은 높은 분자량을 가지고 있고 당단백질의 일종으로

단백질에 mannose를 주성분으로 한 당쇄가 결합한 구조를 하고 있다(fig. 7). 이 단백질은 sparkling wine이 거품을 오래도록 가질 수 있게 하는 효과가 있다고 알려져 있다. 원래 효모의 세포벽 성분으로, 효모를 사용해서 제조한 와인에는 자연 상태에서 100 mg/L 정도는 존재한다고 한다. 만노단백질에 주석산염 석출 저해효과가 있다고 알려진 것은 비교적 최근으로, 그 석출저해기구는 결정핵의 생성저해로 알려져 있다. 원래 존재하는 만노단백질을 다시금 첨가하고 강화하여 앞으로 병 내부에서 주석산염이 석출되지 않도록 하는 것이다. 우리 연구실에서는 냉각처리에 의해 주석산염을 석출하는 불안정한 와인에 만노단백질을 첨가하고 석출저해가 일어나는지를 시험해보고 있다. 그 결과 만노단백질은 상당히 높은 석출저해활성을 가지는 것이 확인되었으며, 와인의 맛이나 다른 성분에 영향을 거의 미치지 않는 것을 알 수 있었다.

와인에는 주석산염 석출에 의한 문제와 같은 정도로 중요한 '단백질혼탁' 현상이 알려져 있다. 와인 중의 단백질(주로 포도당에서 유래하는 단백질)

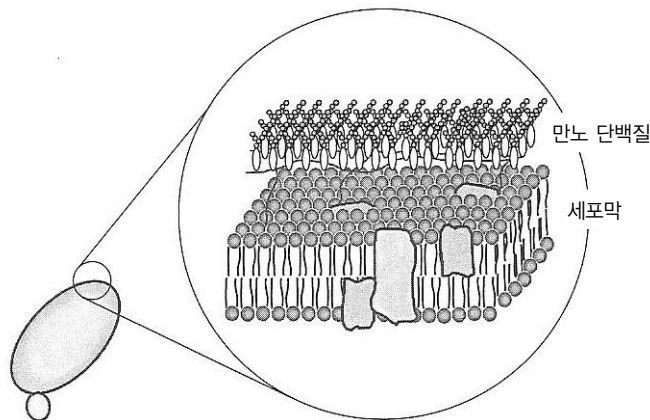


Fig. 7. Mannoprotein on the yeast cell

은 탄닌 등의 polyphenol류와 반응하여 병 내부에서 혼탁을 생성한다. 불가사의하게도 만노단백질은 단백질의 일종이지만 ‘단백질혼탁’도 저해한다. 만노단백질 첨가에 의한 높은 단백질 안정성이 보고되었고 특히 혼탁 방지 factor인 Hpf1p, Hpf2p 두 개의 만노단백질을 *Saccharomyces cerevisiae*에 과다 발현시켜 와인의 탁도를 줄인 보고도 있다. 이 기술은 맥주에서는 이미 유명한 기술이다. 와인 제조에 만노단백질의 이용은 구미 등의 와인 선진국에서는 이미 인정받고 있다(일본 국내에서의 사용은 아직 인정되고 있지 않다). 만노단백질은 와인에 원래 존재하는 천연성분으로, ‘주석산염 석출저해’, ‘단백질 혼탁저해’, ‘스파클링 와인의 거품보존효과’ 등 와인의 품질관리에 있어서 이상적인 작용을 가질 뿐만 아니라 냉각처리로 주석산염을 제거하지 않아도 되기 때문에 주질의 노화를 방지하고 냉각처리에 의한 다량의 전기 사용을 대폭 감소시키고 환경에도 좋은 과학적이고 상당히 흥미로운 기술이다.

맺음말

와인의 이러한 기술은 우리의 전통 발효주 막걸리의 고형물 안정성에도 응용될 수 있을 것으로 기대한다. 이와 같은 기술이 계속 개발되어 와인이 더욱 아름답고 맛좋게 되기를 바라며 아울러 우리의 전통 발효주 막걸리, 약주의 기능성 영양성분 및 안정화 방법에 대한 연구가 많이 보고되고 선전되어 와인과 청주 같이 세계적으로 인기를 누리는 주류가 되기를 기대한다.

● 참고문헌 ●

1. 奥田 徹, 食品工業, 48-53, 2010. 7. 15
2. 해외관 토픽 “포도주 안마시면 잠 못 자는 돼지 외” 세계일보, 2010.09.03
3. Brown SL, Stockdale VJ, Pettolino F, Pocock KF, Lopes MD, Williams PJ, Bacic A, Fincher GB, Hoj PB, Waters EJ, Reducing haziness in white wine by overexpression of *Saccharomyces cerevisiae* genes *YOL155c* and *YDR055w*, *Appl Microbiol Biotechnol*, **73**, 1363-1376, 2007
4. Daniel GR, Manuel Q, Ramon G, Three Different Targets for the Genetic Modification of Wine Yeast Strains Resulting in Improved Effectiveness of Bentonite Fining, *J Agric Food Chem*, **57**, 8373-8378, 2009
5. Ha CH, Kim HY, Youn CW, Paik HD, Eye and Skin Irritation Tests for Cell Wall Glucan and Mannoproteins, from *Saccharomyces cerevisiae*, *Lab Anim Res*, **21**(3), 281-286, 2005
6. Guadalupe Z, Martínez L, Ayestarán B, Yeast Mannoproteins in Red Winemaking: Effect on Polysaccharide, Polyphenolic, and Color Composition, *Am J Enol Vitic*, **61**(2), 191-200, 2010

김혜련 공학박사

소 속 : 한국식품연구원 우리술연구센터

전문분야 : 전통주, 발효미생물

E-mail : hrkim@kfri.re.kr

T E L : 031-780-9109