

# 포도주 양조에서의 효소 이용



이 승 철

(경남대학교 식품공학과 교수)

## ■ 目 次 ■

- I. 서론
- II. 포도에 존재하는 내부 효소들
  - 1. 펙틴 분해효소 (Pectolytic enzymes)
  - 2. 단백질 가수분해 효소 (Proteases)
  - 3. C<sub>6</sub> 알콜 형성에 관여하는 효소
  - 4. Polyphenol oxidases
- III. 포도주 제조에서 상업용 효소의 이용
  - 1. 펙틴 분해효소의 이용
  - 2.  $\beta$ -Glucanase의 이용
  - 3. 포도주 양조에서 향후 응용될 수 있는 효소들
- IV. 결론

## I. 서론

와인(wine)은 넓은 의미에서 과실을 발효시켜 만든 알코올 함유 음료를 말하고 있고, 우리나라 주세법에서도 역시 과실주의 일종으로 정의하고 있지만 일반적으로 신선한 포도를 원료로 한 포도주를 의미한다. 본 고에서는 와인을 포도주라 명칭하여 서술한다. 포도주는 다른 주류와는 달리 제조과정에서 물이 전혀 첨가되지 않으면서도 알코올 함량이 적고, 유기산, 무기질 등이 파괴되지 않은 채 포도 성분이 그대로 살아 있는 술이다. 실제로 포도주의 성분을 분석하면 수분 85%, 알코올 9-13% 정도이고 나머지는 당분, 비타민, 유기산, 각종 미네랄, 폴리페놀 등의 미량 성분으로 나뉘어진다. 근래들어 포도주에 함유된 미량 성분의 기능성이 밝혀지면서 그 소비가 급증하고 있다. 포도주에 존재하는 기능성 성분은 주로 산화력이 있는 Phenolic 화합물의 Flavonoids이며, 이들은 Flavanols, Anthocyanins, Catechins, Catechins의 Oligomer(Procyanidins)나 Polymers(Tannins)의 4가지로 나눌수 있다 (Kanner *et al.*, 1994).

포도주의 맛은 토질, 기온, 강수량, 일조 시간 등 자연적 조건과 포도 재배 방법 그리고 양조법에 따라 달라진다. 3,000여 년 이상의

역사를 지닌 포도주의 일반적인 제조법은 <그림 1>에 나타난 것처럼 크게 포도를 수확해서 열매의 분리 및 파쇄하는 과정, 포도 과즙을 만들고 발효하는 과정, 숙성과 병입과정의 단계로 이루어진다. 전세계의 포도주 생산량 중 75% 이상이 유럽에서 생산되고 있지만, 최근에는 미국을 비롯하여 호주, 아르헨티나, 뉴질랜드, 칠레, 남아프리카공화국 등에서 생산량이 급증하고 있다. 우리나라에서는 1974년에 해태주조에서 '노블와인'을 생산한 것을 시초로 하여 1977년 동양맥주에서 '마주앙'을 그 이후로 진로의 '샤토몽블르', 금복주의 '두리랑', 대선의 '그랑주아' 등이 생산되었다.

고품질의 포도주를 생산하기 위해서는 주어진 포도품종에 대한 성장 환경, 포도주 제조 기술 등의 최적화가 필요하다. 또한, 포도주 제조공정에서 효소들이 매우 중요한 역할을 한다. 19세기 후반에 포도주의 발효 과정을 연구한 미생물의 아버지라 불리는 파스퇴르는 '미생물이 포도주 제조를 좌우한다'라고 말했다. 하지만, 과학이 더욱 발달한 현대에 이르러서는 '효소가 포도주 제조를 좌우한다'고 할 수 있다. 실제로 10종류 이상의 효소가 발효과정에 참여하여 포도 과즙을 포도주로 전환시키며, 이외에도 다양한 효소들이 포도주 제조 공정에 관여한다. 이 중 일부는 유익하지만, 일부

는 포도주의 품질을 악화시킨다. 따라서 고품질 포도주를 제조하기 위해서는 관련 효소들의 성질과 작용에 대해 정확히 알아야 하며, 아울러 유익한 효소가 잘 작용할 수 있는 최적 조건을 만들어 주고, 동시에 해로운 효소들을 저해하여야 한다.

1941년에 Cruess와 Besone은 포도주의 품질 향상과 경제성을 위한 일부 효소적 반응을 촉진시키기 위해 과실 주스를 위해 개발된 상업적 효소들을 포도주 제조에 사용할 것을 제안하였다. 이에 대한 긍정적 결과로 인해 생물공학 적 기법으로 생산된 효소들을 포도주 제조에 이용하게 되었다. 또한 지속적인 연구로 인해 포도주 제조에 새로운 효소들을 적용하는 것도 개발되었다. 본 내용에서의 처음 부분은 포도 내에 존재하는 효소들에 대해 언급하고, 그 이후에 상업용 효소들을 이용하는 것에 대해 서술하겠다.

## II. 포도에 존재하는 내부 효소들

포도주 제조와 기술적으로 관련된 포도 내 재 효소들 중에서 유익한 효소로는 펙틴 분해 효소(Pectolytic enzymes)와 단백질 가수분해 효소(Protease)에 대해 언급하였고, 포도주의 품질에 불리한 효소 중에서는 휘발성 C<sub>6</sub> 알콜

<그림 1> 일반적인 포도주의 제조법

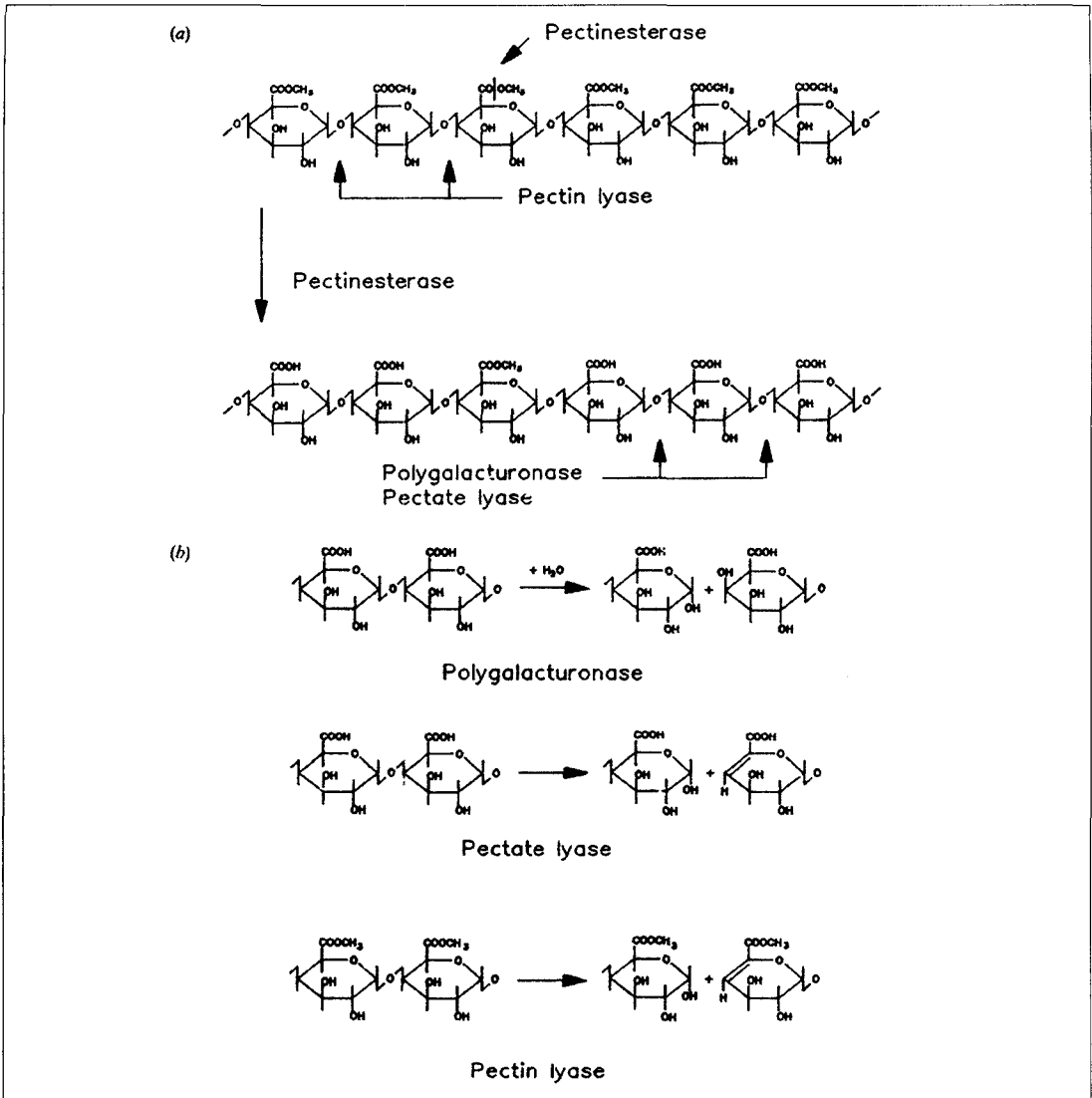
### · 백포도주

포도수확(포도원) → 운반 → 공장 → 제경, 파쇄(줄기를 골라내고 포도를 으갠) → 압착 → 주스 → 발효 → 앙금분리(걸러내기) → 숙성 → 여과 → 병입 → 코르크마개 → 병저장 → 출하

### · 적포도주

포도수확(포도원) → 운반 → 공장 → 제경, 파쇄(줄기를 골라내고 포도를 으갠) → 전발효 → 압착 → 후발효 → 앙금분리(걸러내기) → 숙성 → 여과 → 병입 → 코르크마개 → 병저장 → 출하

〈그림 2〉 펙틴의 구조와 펙틴 분해효소. (a) 펙틴의 구조 및 분해효소의 작용점, (b) 각종 펙틴 분해효소의 작용기작



생성에 관련된 효소와 Polyphenol oxidase에 대해 언급하였다. 더욱 자세한 내용은 관련 문헌을 참조하기 바란다.

1. 펙틴 분해효소 (Pectolytic enzymes)

과즙이나 포도주에 존재하는 펙틴 분해효소들은 여러 기원을 가질 수 있는데, 포도, 효모, *Botrytis cinerea*와 같은 미생물등에서 기인한

다. 여기에는 Pectinesterase, Polygalacturonase, Pectin lyase, 그리고 Pectate lyase 등의 모든 종류의 펙틴 분해효소들이 포함된다.

가. 펙틴 분해 효소의 기술적인 연관성

펙틴 분해 효소 중에서 Pectinesterase는 Methyl화된 펙틴을 탈에스테르(Deester)화하여 Methanol을 유리한다. 또 Depolymerase(Polygalacturonase, Pectin Lyase, Pectate lyase)들은

펙틴 사슬을 작은 단편으로 가수분해한다. <그림 2>

Depolymerase, 특히 endo형의 경우는 빠른 시간 내에 펙틴 용액의 점도를 감소시키는데, 긴 사슬 중에서 단지 몇 곳에서만 가수분해하여도 점도를 50%이상 줄일 수 있다. 점도가 빨리 감소하면 부유 물질들을 빨리 침전시킬 수 있다. 이런 반응의 잇점은 과즙 추출의 향상, 빠르고 완벽한 과즙 청징에 있으며, 따라서 최종적으로는 포도주 여과가 쉬워진다.

#### 나. 내재 펙틴 분해효소의 기원

##### ①포도

포도는 주로 Pectinesterase(PE)와 Polylacturonase(PG) 활성을 가진다. 포도가 숙성될수록 이들의 활성은 증가하며, 숙성 말기에는 감소한다(Grassin, 1987). 효소 활성은 열에 불안정하여 PG의 경우에는 60°C에서 20분만 노출되어도 활성의 50% 이상이 줄어든다(Olivieri, 1975). PE는 주로 포도 껍질에 존재하고, 그 활성은 알콜 발효 동안에 감소한다(Montedoro and Bertuciolli, 1975; Marteau et al., 1961).

##### ②효모

효모에서의 펙틴 분해 효소에 대한 보고는 거의 없다. 효모는 PG와 소량의 PE를 생산한다. 효모 PG의 가수분해 기작은 Demain과 Phaff(1954)에 의해 발표되었다.

##### ③*Botrytis cinerea*

고품질의 포도주인 프랑스산 소떼른느(Sauterne)나 독일산 베렌아우스레제(Beerenauslese)는 포도 나무에 곰팡이인 *Botrytis cinerea*가 자라 유발된 귀부병에 걸린 포도를 이용하여 제조된다. 이 경우에는 미생물이 포도 껍질을 파고 들어 수분을 손실시키고 당분을 농축하며, 향미도 바람직하게

변한다. *Botrytis cinerea*는 PG, PE를 주로 성장기 동안에 생산한다(Grassin, 1987). 이 미생물이 함유된 과즙은 그렇지 않은 경우에 비해 약 200배 이상의 PG가 존재하며, 따라서 펙틴 함량이 매우 낮다.

#### 2. 단백질 가수분해 효소 (Protease)

가. 단백질 가수분해 효소의 기술적인 연관성  
포도 단백질들은 포도주를 저장할 때 생기는 부유 물질과 관계가 있다고 생각되어진다. 포도주를 병에 주입하고 난 후에 이런 침전물이 생기면 상품가치가 매우 떨어진다. 이러한 혼탁 입자들의 분자량은 12,600에서 30,000이다(Hsu and Heatherbell, 1987; Dubourdieu et al., 1988). 이런 침전물의 형성을 방지하기 위해 Bentonite를 흡착제로 이용해 왔지만, 이 방법은 선택적이지 못하여 다른 유용 성분까지도 제거되는 단점이 있었다. 이러한 선택성의 결여는 특히 Bentonite가 많이 투여되었을 때 종종 포도주의 관능 품질에까지 영향을 끼친다. 따라서 미생물 유래 단백질 가수분해 효소 처리와 같은 보다 선택적인 방법을 사용하는 것이 적합하다(Blade and Boulton, 1988). 그러나, 포도 단백질의 가수분해 산물은 이차 발효나 Malolactic 발효에 관련된 미생물에 대한 영양원으로 작용하므로 신중해야 한다(Feuillat et al., 1980).

#### 나. 내재 단백질 가수분해 효소의 기원

##### ①포도

포도에서도 단백질 가수분해 효소 활성이 발견되었지만, 너무 미약하며 발효 과정에서 생성된 알콜과 과즙 청징에 의해 쉽게 저해된다 (Cordonnier and Dugal, 1968; Feuillat et al., 1980; Canonica and Ferrari,

1987). 따라서, 포도주 제조에 미치는 영향은 매우 미약하다.

#### ②효모와 미생물

효모는 포도보다 안정한 단백질 가수분해 활성을 보인다. 이 효소는 알콜 발효 동안에도 안정하며, 효모 종류에 따라 크게 변한다. 단백질을 가수분해하여 *Lactobacillus oenos*에 영양소로서 제공되는 펩티드를 생산하는 능력과 Malolactic 발효의 급속한 개시 사이에는 상관관계가 있다.

Lurton(1988)에 의하면 효모 세포의 자가분해에 관여하는 주된 효소들은 단백질 가수분해 효소들인 반면, 효모 세포벽으로부터 Mannoprotein이 유리되는 데에는  $\beta$ -1, 3-Glucanase가 관여한다고 한다(Llauberes et al., 1987; Llauberes, 1988). 이러한 거대분자는 포도주에 확산되어 포도주의 관능적 품질에 긍정적인 영향을 미친다(Feuillat and Charpentier, 1982; Silva et al., 1987). 한편, *Botrytis cinerea*에 의해 생산된 단백질 가수분해 효소는 동정되어 보고된 바 있다(Heale and Movahedi, 1989).

### 3. C<sub>6</sub>알콜 형성에 관여하는 효소

#### 가. 기술적 연관성

Hexanol과 같은 휘발성 C<sub>6</sub> 알콜 화합물은 포도 과즙과 포도주의 풀 맛에 관련이 있다. 포도를 과쇄한 경우에서 과쇄하지 않은 경우보다 더 많은 C<sub>6</sub> 알콜 화합물이 생성된다. 과즙을 청징화하면 C<sub>6</sub> 알콜 화합물의 생성이 감소한다 (Dubourdieu et al., 1986; Ollivier, 1987). C<sub>6</sub> 알콜 화합물이 생성되기 위해서는 네가지 효소-Acyl hydrolase, Lipoxygenase, Hydro-peroxide-cleaving enzyme, Alcohol dehydrogenase-의 연속적인 작용이 필요하다

(Rapp et al., 1976; Cayrel et al., 1983; Crouzet et al., 1985).

#### 나. 효소의 기원

C<sub>6</sub> 알콜 화합물은 포도를 과쇄하고 난 후에 발효 전 단계동안 산소가 존재할 때 생성된다. 알콜 발효 과정 동안 Hexanal과 Hexenal은 효모에 의해 거의 완전히 Hexanol과 Hexenol로 전환된다. 따라서, 포도와 효모의 효소들이 이렇게 풀 냄새가 나는 좋지 않은 휘발성 화합물 생성에 관계한다.

### 4. Polyphenol oxidase

포도 과즙에서 페놀 화합물 (Phenolic compound)의 산화는 Polyphenol oxidase에 의해 촉매된다. 그러나, 포도의 Polyphenol oxidase와 *Botrytis cinerea*의 Polyphenol oxidase는 구분해야 한다 (Dubernet and Ribereau-Gayon, 1973, 1974; Dubernet, 1974; Dubernet et al., 1977).

#### 가. 포도의 Polyphenol oxidase

포도의 Polyphenol oxidase는 Tyrosinase라고도 불리는데, 주로 엽록체와 같은 불용성 세포내 성분에 붙어 있다. 청징 과정에 의해 포도 과즙으로부터 쉽게 제거될 수 있는데 포도주 제조 조건(pH, SO<sub>2</sub>, alcohol)에서는 불안정하다. 따라서 포도의 Polyphenol oxidase는 청징화와 SO<sub>2</sub>의 첨가에 의해 쉽게 조절할 수 있다.

고산화 기술에서, 이 효소는 백포도주의 산화 가능한 Polyphenol의 양을 줄이는데 유용하게 이용된다 (Muller-Spath, 1989). 백포도주의 여러 향미에 대한 이러한 기술의 효과는 더욱 면밀하게 조사되어야 한다.

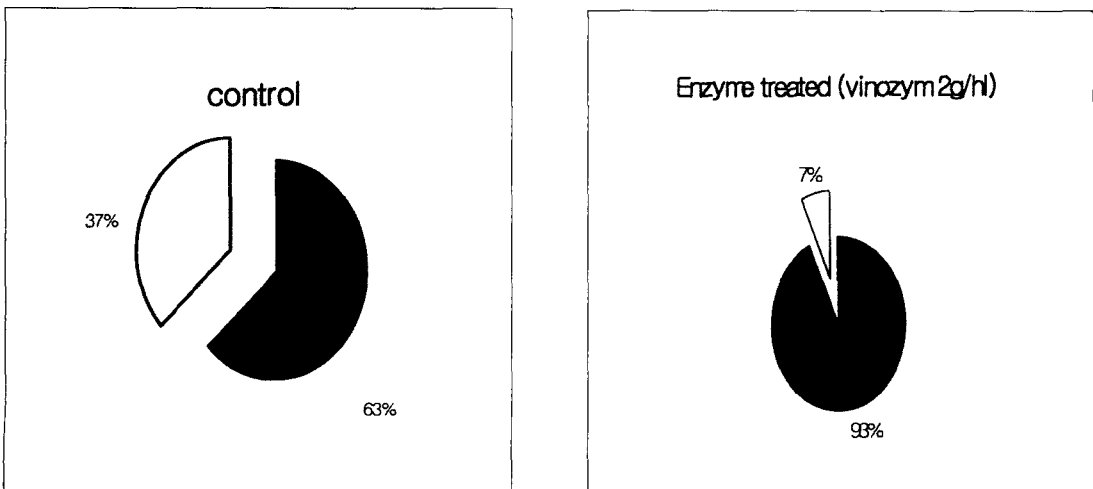
#### 나. *Botrytis cinerea*의 polyphenol oxidase

*Botrytis cinerea*에서 생성되는 Polyphenol oxidase는 Laccase라고 불린다. 이 효소는 Tyrosinase보다 약 30배 정도 활성이 더 높다. 그러나 이 효소는 pH, SO<sub>2</sub>에 저항력이 있고 포도주 제조 조건에서도 안정하다. 이런 특성 때문에 이 효소는 포도주 제조에 유해하다고 인식되어졌다. Laccase는 적포도주 색의 손실과 갈변화에 관여한다. 따라서 이 Polyphenol oxidase를 잘 이해하고 조절하는 것은 매우 중요하다. 일반적으로 이 효소의 불활성화는 열처리와 SO<sub>2</sub> 첨가에 의해 이루어진다. 그러나, Laccase는 포도주 내에서 어느 정도 잔존할 수 있으므로 효소 활성을 수시로 측정하고 조절해야 하는데, 특히 포도주가 공기에 노출되기(포도주를 짜내기) 전에 조절되어야 한다. Laccase 활성을 측정하는 간단한 발색 방법은 보르도 포도주 연구소 (Wine Research Institute of Bordeaux)에서 개발되었으며, 현재는 상용화된 간단한 키트가 유용하다 (NOVO Test Botrytis® NOVO NORDISK FERMENT).

### III. 포도주 제조에서 상업용 효소의 이용

포도주 제조 조건에서 내재하는 효소를 강화하기 위한 상업용 효소가 계속 개발되어져 왔다. 일부 경우에는, 유용한 효소가 재료에 결여되어 그 차이를 메우기 위해 상업용 효소를 이용한다. 대표적인 두 종류의 상업용 효소는 펙틴 분해효소(Pectolytic enzyme)와  $\beta$ -Glucanase 이다. 펙틴 분해효소는 1970년대 초반에,  $\beta$ -Glucanase는 1984년에 포도주 제조에 도입되었다. 펙틴 분해효소는 과즙 추출 향상, 기타 유용 성분 추출 향상, 청징 및 여과 효율 증대 등을 위해 이용된다.  $\beta$ -Glucanase는 *Botrytis* 균의  $\beta$ -Glucan에 의해 유발되는 특정한 청징, 여과 문제를 해결하기 위해 개발되었다. 일반적으로 외부에서 첨가되는 효소들은 발효 초기에 첨가되는데, 그 이유는 발효 과정에 생성되는 알콜에 의해 효소활성이 저해되기 때문이다.

〈그림 3〉 포도 마쇄물로부터 포도 과즙 회수에 대한 효소의 영향



자연 회수 (자연 유출 및 일차, 이차 압착: □), 압착 회수 (3차부터 5차 압착: ■)

## 1. 펙틴 분해효소의 이용

## 가. 백포도주 제조

## ① 과즙 착즙

펙틴은 세포벽의 구조 화합물로서, 포도의 단단함을 결정한다. 포도로부터 과즙을 착즙할 때의 수율과 압착 시간 등은 포도에 존재하는 펙틴과 밀접한 관계가 있다. 착즙 수율에서 효소를 이용한 펙틴 분해의 영향은 다음 두 가지 예에서 볼 수 있다.

첫 번째 예는 펙틴 함량이 높은 헝가리 포도 품종인 카다르카(Kadarka)에서 얻어진 결과에서 볼 수 있다 (Canal-Llauberes, 1989). 포도를 압착기에 충전하는 동안 연속해서 효소 (Vinozym® NOVO NORDISK FERMENT)를 첨가하고, 이 때 효소의 작용 시간은 1-2 시간, 온도는 14°C였을 때, 회수된 과즙의 양을 <그림 3>에 나타내었다. 그림에서 보듯이, 고품질의 과즙 (자연 유출 및 1차, 2차 압착으로 회수된 과즙)은 대조구에서보다 효소 처리구에서 더 우수하였다.

또 다른 예로, 카다르카 품종보다 펙틴의 함량이 낮은 스페인 포도(Rnairen, Verdejo)에 Rapidase CX®(Gist brocades)를 처리한 경우에도 비슷한 결과가 보인다(<표 1>).

<표 1> 과즙 회수에 대한 효소(Rapidase CX) 처리의 영향

	대조구(Kg)	효소처리구(Kg)
전체 투입량	4000	4000
자연 유출 및 1차 압착분	2305	2650
2차 및 3차 압착분	630	500
4차 및 5차 압착분	230	150
전체 수율	3165	3300

<표 1>에 나타난 바와 같이 고품질 과즙 (자연 유출 및 1차 압착으로 회수된 과즙)

<표 2> 포도주의 terpene 화합물 양에 미치는 효소 (ultrazym 100)의 영향

Terpene 화합물	대조구(Kg)	효소처리구(5g/Kg)
Linalol	2.5	3.1
Terpineol	0.5	0.9
Citronellol	5.3	8.3
Geraniol	6.7	7.5
Total	15.0	20.0

은 효소를 처리한 경우에 66.3%이고, 효소를 처리하지 않은 대조구에서는 57.6%였다. 또한, 전체적인 과즙의 회수율은 효소 처리구에서 82.5%, 대조구에서 79.1%이었다.

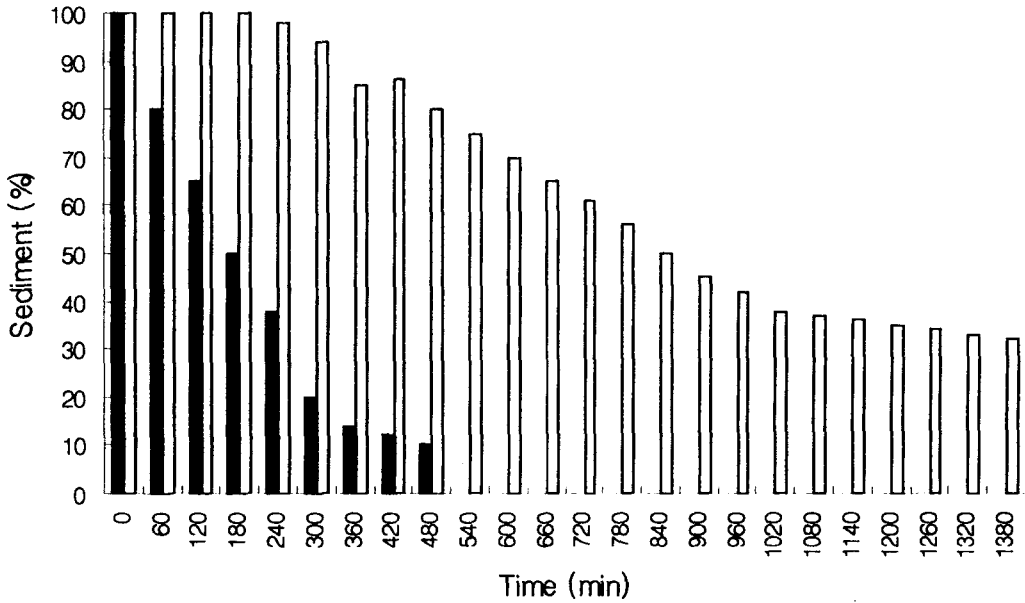
이상의 두 예는 효소 처리의 긍정적인 영향을 극명하게 보여준다. 과즙 추출에서의 긍정적인 면 이외에, 효소 처리는 방향족 화합물의 추출 증대를 유발한다. <표 2>에 Ultra-zym 100® NOVO NORDISK FERMENT을 사용한 예를 나타내었다 (Ollivier, 1987).

## ② 과즙 청징

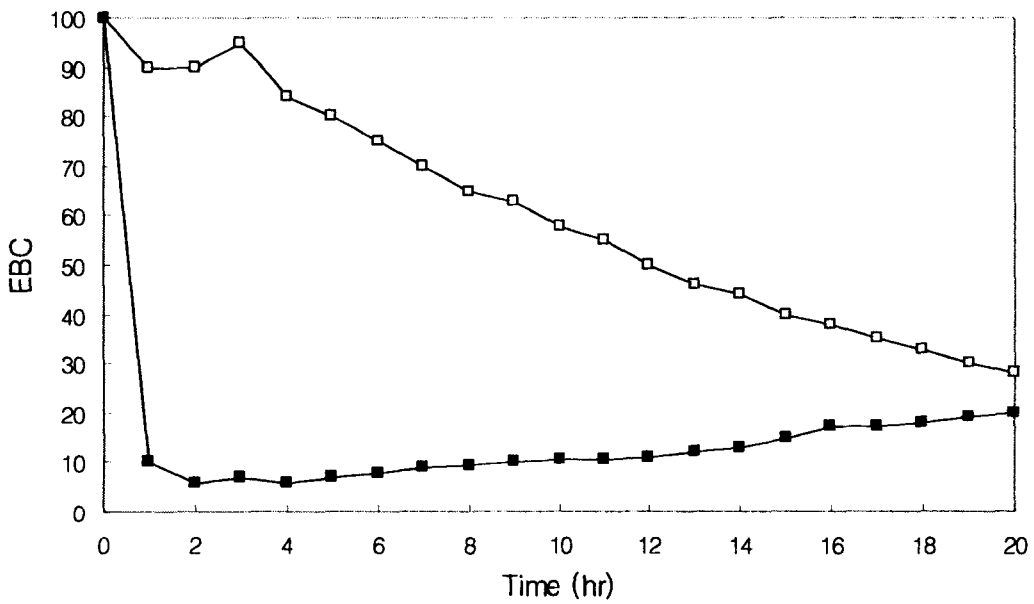
과즙 청징과 부유 물질의 응집에 대한 효소 처리의 영향을 <그림 4>에 나타내었다 (Canal-Llauberes, 1989). 펙틴 함량이 비교적 낮은 샤슬라(Chasselas) 품종의 포도 과즙에 처리한 결과인데, 부유물질의 침전은 효소를 처리한 경우에 훨씬 빨랐으며 펙틴 함량이 높은 포도 과즙의 경우에는 더욱 효과가 클 것이다. 효소를 처리한 경우와 같은 정도의 침전물을 얻기 위해서 대조구에서는 4~5배 이상의 시간이 필요하다.

샤슬라 품종에 대한 또 다른 시도로서 20 시간 동안 과즙의 청징을 관찰하였다 (<그림 5>). 10 mL의 포도 과즙을 3,000×g에서 5 분간 원심분리한 후에 상등액의 혼탁도를 측정하였는데, 효소를 처리한 경우에서 청

<그림 4> 효소 처리가 포도 과즙에서의 침전에 미치는 영향. 대조구(□) 및 효소처리구(■)



<그림 5> 포도 과즙의 청징에 대한 효소의 영향. 대조구(□) 및 효소처리구(■)





〈표 3〉 Sylvaner 포도 파쇄물에 대한 효소(Vinozym, NOVO NORDISK FERMENT) 처리가 포도주의 여과에 미치는 영향

여과시간(hr)	포도주 여과 양상			
	효소처리구		대조구	
	여과압(bar)	여과량(liter)	여과압(bar)	여과량(liter)
0.5	3.0	3,500	3.0	3500
1.0	3.0	7,000	6.0	6500
1.5	3.0	10,500		
2.0	3.0	13,500		
2.5	6.0	15,500		

징 효과가 확실하게 나타났다. 효소를 처리하지 않은 대조구에서는 20시간이 지나도 효소를 처리한 경우의 1시간 후의 청징 정도에 도달하지 못하였다.

### ③ 포도주 여과

포도주 여과에 대한 효소 처리의 영향을 보기 위하여 펙틴 함량이 보통인 실바너(Sylvaner) 품종에 대해 시도하였다. 압착 전의 포도 파쇄물에 효소를 처리하고, 압착과 여과 공정 사이에는 효소를 처리하지 않았다. 여과 공정은 10 m<sup>2</sup> Kieselgur filter를 사용하여 실시하였는데, 그 결과를 〈표 3〉에 나타내었다. 표에서 볼 수 있듯이, 효소를 처리한 경우에 대조구에 비하여 2.5배 이상의 여과가 가능하였다. 이상과 같이 효소 처리로 인한 경제적인 측면(여과 물질, 여과 시간, 포도주 손실) 등은 고려할 만한 가치가 있다.

### 나. 적포도주 제조

전통적으로 적포도주 제조에 펙틴 분해효소를 이용하는 것은 청징화와 여과를 향상시키기 위해서이다. 효소 처리 결과는 앞에서 언급한 백포도주와 비슷하거나 그 이상이다.

적포도주 제조에 대한 효소의 또 다른 이용은 색소 추출을 위해서이다. 실험실 규모에

서 순도가 낮아서 hemicellulase, cellulase 등도 함유한 펙틴 분해효소가 순도가 높은 표준 펙틴 분해효소보다 더 좋은 결과를 나타냈다(Villettaz, 1986). 또한 적색 색소 화합물을 안정화시키는 polyphenol을 추출하기 위해서는 효소 처리 기간이 1주일 정도는 되어야 하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 색의 강도는 색소의 안정성과 연관되지 않고, 좋은 색깔의 포도주는 효소 처리후 2~3일 후에 얻어지지만 이런 포도주는 malolactic 발효 후에 대부분의 색소가 손실된다. 이는 anthocyanin glycoside가 가수분해되어 불안정한 aglycone 형태로 되기 때문인데, 그 이유는 상업적으로 이용되는 효소가 아주 순수하지 않고 불순물이 함유되어 있어 유발되는 부반응으로 인한 것이다. 상업용 효소의 경우에는 항상 이런 문제가 뒤따르지만 간혹 이런 부반응이 도움이 되는 경우가 있기도 하다. 따라서, 좋은 색의 안정화를 위해서는 효소를 8~10일 처리하는 것이 필요하다.

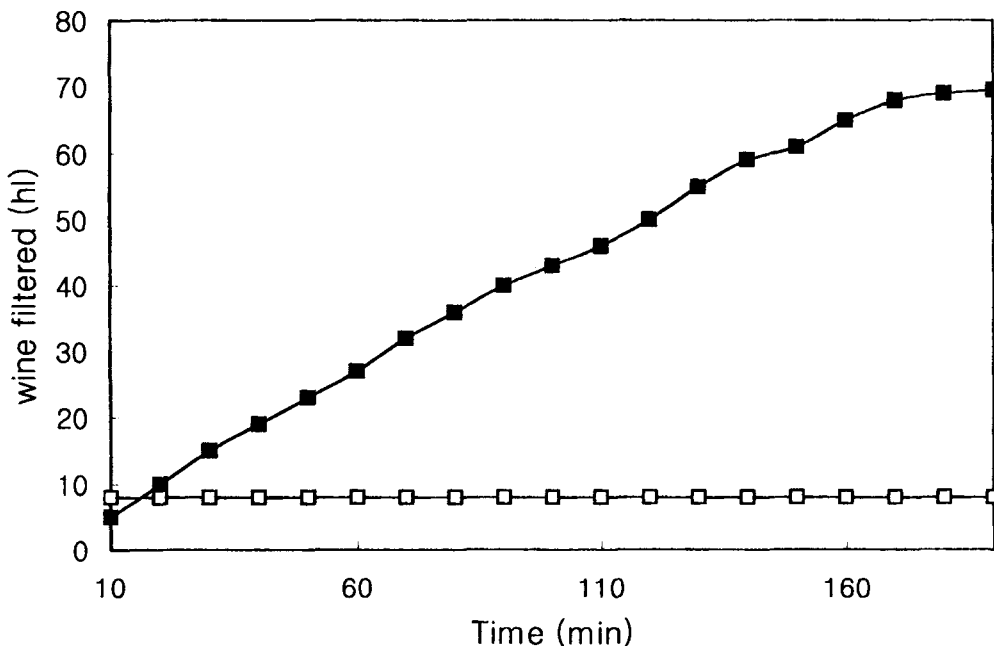
이를 응용하여 적포도주의 대량 생산에 널리 이용되는 'Thermovinification'이라는 기술에 펙틴 분해효소를 사용하고 있다. 이 과정은 몇 시간 동안 50°C로 포도 마쇄물을 가열하여 포도 껍질로부터 Anthocyanin을 가용화하고 짙은 맛을 내는 Procyanidin polyphenol의 과다

한 침출을 유도하지 않는다. 이렇게 하여 좋은 색깔의 포도주 제조가 가능하며 쓴맛을 제거하기 위한 오랜 숙성 과정이 필요없어진다. 따라서 이런 종류의 포도주는 단기간에 제조되어 유통됨으로서 전통적인 방법처럼 자금이 묶여 있거나 재고가 많이 있을 필요가 없다. 그러나 가열과정이 있음으로서 전통적인 방법보다는 포도로부터 유리되는 펙틴이 많이 함유된다. 따라서 가열된 포도 마쇄액에 펙틴 분해효소를 첨가하여 점도를 줄일 필요가 있다. 이 과정의 또 하나의 장점은 Anthocyanin 추출이 증대된다는 것인데 이는 효소가 세포벽의 구조를 파괴함으로써 색소를 쉽게 용출되게 하기 때문이다 (Pilnik, 1982). 앞으로의 연구에서는 적포도주의 색의 안정성 문제를 이해하고 숙지하는 것이 필요하다.

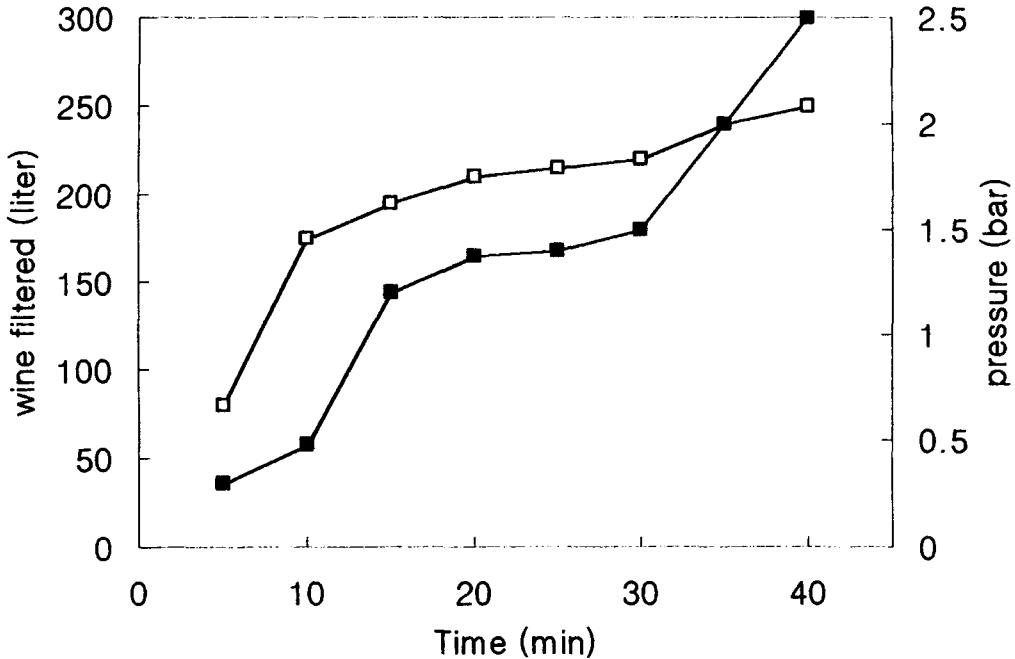
## 2. $\beta$ -Glucanase의 이용

귀부병에 감염된 포도(botrytized grape)로 제조된 포도주에는 *Botrytis cinerea*가 생산한 고분자의  $\beta$ -Glucan이 함유되어 있어 청징과 여과에 어려움이 많다. 이 Glucan은  $\beta$ -1,6 결합기가 붙어 있는  $\beta$ -1,3 Glucose 사슬로 구성된 Polymer인데, 이 Polymer는 효모 발효에 의해 분해되지 않으며 또 최종 생산된 포도주 내에도 존재한다. 전통적인 포도주 제조에서는 조잡한 여과 장치를 이용하였으므로 이러한 Polymer는 문제가 되지 않았다. 그러나 현재에는 효모나 세균이 병 속에서 발효하는 것을 막기 위하여 약  $0.5\mu\text{m}$  크기의 작은 구멍을 가진 여과막에 백포도주를 통과시킨다. 1980년대 초반에 이것은 아주 문제가 되었는데,  $\beta$ -Glucanase

<그림 6> 효소적  $\beta$ -glucan 분해가 포도주 여과력에 미치는 영향(대조구, □; 효소 처리구, ■)



〈그림 7〉 대조구 포도주에서의 여과(□) 및 압착(■) 양상



가 보리의 Glucan은 잘 분해하지만 *Botrytis*균의 Polymer에 대해서는 작용하지 못했기 때문이다. 그러나 다행히도 유용한 Glucanase를 생산하는 *Trichoderma viride*를 발견하였고, 이 효소가 현재 상업적으로 이용된다 (Dubourdiou et al., 1981).

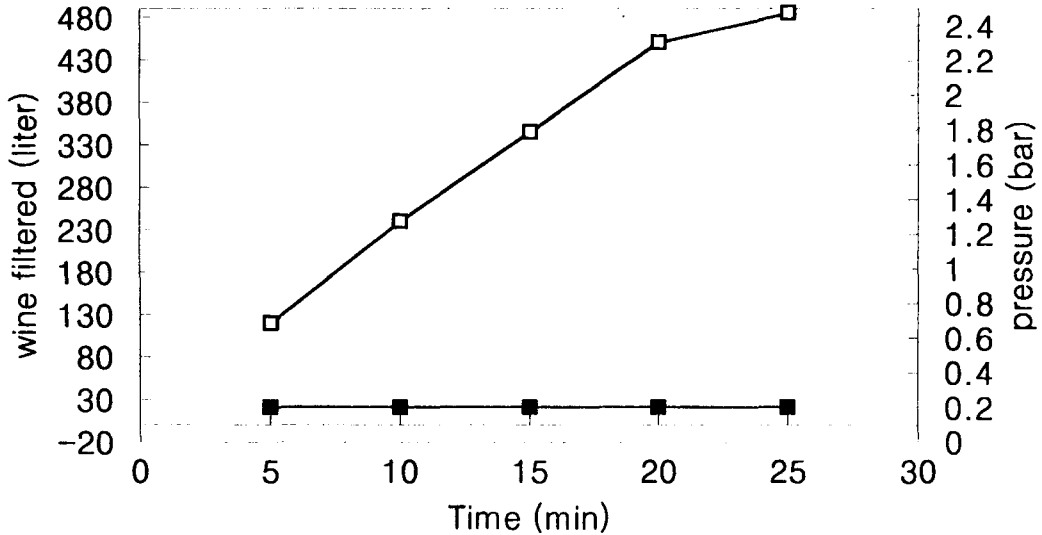
*Botrytis glucan*은 다음과 같은 매우 간단한 방법으로 쉽게 확인할 수 있다. 즉, 시험 대상 포도주 10ml를 시험관에 넣고 96% 알코올을 5ml 가한 후 부드럽게 흔들어 이 용액들을 완전히 섞는다. 포도주 1 리터당 15 mg 이상의 Glucan이 있으면 수분 이내에 섬유상의 침전물이 보인다. 소량의 Glucan을 검출하기 위해서는 포도주 5 mL에 96% 알코올 5 mL를 가하여 섞은 후 상온에서 30분간 방치하고 700~800×g에서 20분간 원심분리한 후, 상정액을 조심스레 제거하고 침전물을 물 1 mL에 녹이고 96% 알코올을 0.5 mL 가한다. 이 때 섬유상

의 침전물이 생기면 소량의 Glucan (3% 내외)이 존재함을 의미한다.

$\beta$ -Glucanase로 Glucan과 관련된 문제들을 대부분 해결할 수 있는데, 그 예는 다음과 같다. 리터 당 22 mg의 Glucan을 함유한 보르도 백포도주를 두 부분으로 나누어 한 쪽에는 효소 (Glucanex® NOVO NORDISK FERMENT)를 처리하고, 다른 한 쪽은 효소를 처리하지 않는다. 이들을 Kieselgur (여과 표면적 4 m<sup>2</sup>)으로 여과시켰을 때 그 결과는 〈그림 6〉과 같다. 그림에서와 같이 효소 처리구가 대조구보다 약 10배 정도 여과율이 우수하다.

다른 예는 여과 패드에 여과한 양상으로서 여과 전에 효소 처리한 포도주 대조구 모두를 우선 원심분리한 후 여과한 결과를 〈그림 7〉, 〈그림 8〉에 나타내었다. 이 결과로 알 수 있듯이 원심분리로는 Glucan을 제거하지 못하며 이는 여과될 때에 문제를 유발한다 (Villettaz

〈그림 8〉 효소(Glucanex, 1g/hl) 처리구 포도주에서의 여과(□) 및 압착(■) 양상



et al., 1984).

Glucanase를 처리하면 Glucan으로 인한 여과 문제를 아주 효율적으로 해결할 수 있다. 즉, 낮은 압력에서 더 좋은 여과가 가능하며 여과 비용을 절감해 줄 뿐만 아니라 이런 효소 처리는 포도주의 관능적인 성질에 영향을 주지 않는다.

### 3. 포도주 양조에서 향후 응용될 수 효소들

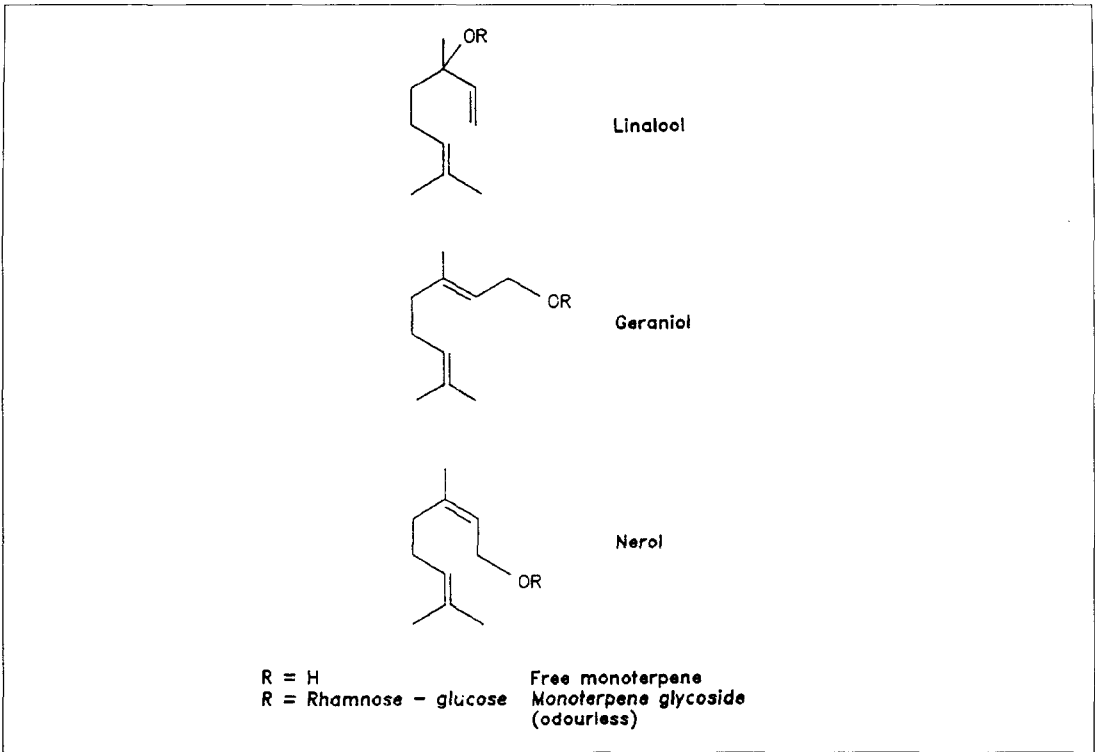
적포도주 제조에 있어 색소 추출을 위한 광범위한 활성을 가지는 펙틴 분해효소의 개발은 가까운 미래에 행해질 연구 중의 하나이다. 또한, 이미 언급했듯이 백포도주에서 단백질을 침전을 막기 위해 이용되는 Bentonite를 미생물 효소로 대체하는 것도 연구 대상이며 이미 상당히 진행되었다.

한편, 포도주 향기의 대부분은 효모 대사에서 발생하는 알콜과 에스테르 화합물에 기인하지만, 뭉스카(Muscat)와 게브르츠트라미너

(Gewurztraminer) 같은 일부 포도 품종은 스스로 특이한 향기 성분을 가지고 있다. 근래에 이들 향기 성분은 휘발성 Monoterpene인 Linalool, Geraniol, Nerol으로 밝혀졌다 〈그림 9〉. 이들 성분은 압착, 발효, 저장 과정 중에 포도로부터 유리된다 (Strauss *et al.*, 1986). 다른 과일 향과는 달리 이들 화합물은 자연 상태에서 Glycoside 결합되어 있는데, 포도주 숙성 과정 중에 산 가수분해에 의해 매우 느리게 방출된다. 이들 화합물에 대한 포도 내재 Glucosidase의 활성은 매우 약하여 포도주에 존재하지 않는 향기 성분이 포도 과즙에 많이 내포되어 있다. 따라서, 효소를 첨가하여 양조 과정 중에 Glycoside로부터 Monoterpene류를 유리시키는 것도 향후의 관심사이다. 곰팡이 Pectinase의 부반응으로 이런 반응을 유발하거나 다양한 *Candida* 효모의 세포외 glycosidase를 이용할 수도 있다 (Gunata *et al.*, 1990).

또한, 포도주를 Glucose oxidase와 Catalase로

〈그림 9〉 포도주에 존재하는 대표적인 방향성 Terpene류



처리하면 많은 양의 Gluconic acid 생산이 가능하다. 포도주 효모에 의해서 Gluconic acid는 알콜로 대사되지 않으므로, 저 알콜 포도주의 제조에 이용될 수 있다. 이 경우 과다한 Gluconic acid는 제거해야 하는데, 포도주에 Gluconic acid가 남아 있으면 산이 저장되어 있는 상태가 되므로 산 농도가 낮은 포도주와 혼합하여 이용되어야 좋은 포도주가 될 수 있다. Glucose oxidase와 Catalase를 이용하는 기술은 최적화를 위하여 향후 더욱 연구되어야 한다 (Villettaz, 1986).

#### IV. 결론

포도주는 수천년부터 인류에 의해 인위적으로 제조되어 이용된 양주로서, 그리스와 로마에 의해 전세계로 퍼져나가 이제는 세계에

서 가장 많이 이용되는 주류 중의 하나가 되었다. 특히, 근래들어 포도주에 존재하는 건강에 유익한 기능성 물질들이 알려지면서, 우리나라에서도 그 소비가 급증하고 있다. 그러나, 포도주의 종주국인 프랑스의 위치가 갈수록 흔들리고 있고 아메리카, 오세아니아에서의 포도주 생산이 증가하고 있는 시점에서 대부분을 수입에 의존하고 있는 우리 입장에서 우리나라의 실정에 맞는 포도주의 생산도 고려해볼만 하다. 더구나 포도주의 제조 공정이 세밀하게 연구된 시점에서 미생물과 효소를 이용한 새로운 공정이 용이하여 더 이상 수입에 의존할 필요는 없다. 이러한 시도는 근래들어 우리나라에서 급발전하고 있는 바이오기술과의 접목으로 포도주 제조에서의 효소 이용이 더욱 쉬워짐으로서 향후의 우리나라 포도주 산업의 발전을 기대해 본다.

## 〈참고문헌〉

1. Blade, H., and Boulton, R. (1988) Adsorption of protein by bentonite in two model wine solution. *Am J. Enol. Vitic.* 39, 193-199.
2. Canal-Llaubères, R.M. (1989) Les enzymes industrielles dans la biotechnologie du vin. *Rev. Oenolog.* 53, 17-22.
3. Canonica, B., and Ferrari, G. (1987) "Mémoire Fin D'étude." Enita, Dijon, France.
4. Cayrel, A., Crouzet, J., Chan, H.W.S., and Price, K.R. (1983) Evidence for the occurrence of lipoxygenase activity in grapes (variety carignane). *Am. J. Enol. Vitic.* 34, 64-77.
5. Cordonnier, R., and Dugal, A. (1968) Les activités protéolytiques du raisin. *Ann. Technol. Agric.* 17, 189-206.
6. Crouzet, J., Nicolas, M., Molina, J., and Valentine, C. (1985) In *Progress in Flavour Research* (J. Adda, ed.), pp. 401-408. Elsevier Science, Amsterdam.
7. Cruess, W.W., and Besone, J. (1941) *Fruit Prod. J. Am. Vin. Ind.* 20, 365
8. Demain, A.L., and Phaff, H.J. (1954) Hydrolysis of the oligogalacturonides and pectic acid by yeast polygalacturonase. *J. Biol. Chem.* 210, 381-393.
9. Dubernet, M. (1974). "Recherches sur la tyrosinase de *Vitis Vinifera* et la Laccase de *Botrytis cinerea*," Applications technologiques, Thèse 3ème cycle, Université Bordeaux II.
10. Dubernet, M., and Ribéreau-Gayon, P. (1973). Les polyphenoloxydases du raisin sain et du raisin parasité par *Botrytis cinerea*. *R. Acad. Sci.* 277D, 245-470.
11. Dubernet, M., and Ribéreau-Gayon, P. (1974). Isoelectric point changes in *vitis vinifera* catechol oxidase. *Phytochem.* 13, I-085-I-087.
12. Dubernet, M., Ribéreau-Gayon, P., Lerner H.R., Harel, R., and Mayer, A.M. (1977) Purification and properties of laccase from *Botrytis cinerea*. *Phytochem.* 16, 191-193.
13. Dubourdieu, D., Fournet, B., Ribéreau-Gayon, P. (1981) Identification d'un glucane sécrété dans la baie de raisin par *Botrytis cinerea*. *Carbohydr. Res.* 93, 294-299.
14. Dubourdieu, D., Ollivier, C., and Boidron, J.N. (1986) Incidence des opérations préfermentaires sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins blancs secs. *Conn. Vigne Vin* 20, 53-76.
15. Dubourdieu, D., Serrano, M., Vannier, A.C., and Ribéreau-Gayon, P. (1988b) Etude comparée des tests de stabilité protéique. *Conn. Vigne Vin* 22, 261-273.
16. Feuillat, M., and Charpentier, C. (1982) Autolysis of yeast in champagne. *Am. J. Enol. Vitic.* 33, 5-13.
17. Feuillat, M., Brillant, G., and Rochard, J. (1980) Mise en évidence d'une production de protéases extracellulaires par les levures au cours de la fermentation alcoolique du moût de raisin. *Conn. Vigne Vin* 14, 37-52.
18. Grassin, C. (1987) Recherche sur les Enzymes Extracellulaires Secrétées par *Botrytis cinerea* dans la Baie de Raisin. Applications Oenologiques et Phytopathologiques. Ph.D. Thesis, Université de Bordeaux II.
19. Gunata, Y.Z., Dugelay, I., Sapis, J.C.,

- Baumes, R., and Bayonove, C. (1990) Action des glycosidases exogènes au cours de la vinification : libération de l'arôme à partir de précurseurs glycosidiques. *Conn. Vigne Vin* 24, 133-144.
20. Heale, J., and Movahedi, S. (1989) Primary role of an aspartic proteinase enzyme produced by *Botrytis cinerea* in causing cell death in plant tissues. In *Actualités Oenologiques, IV Symposium International d'Oenologie de Bordeaux*. pp. 127-132, Dunod, Paris.
21. Hsu, J.C., and Heatherbell, D.A. (1987) Heat unstable proteins in wine. I. Characterization and removal by bentonite fining and heat treatment. *Am. J. Enol. Vitic.* 38, 11-16.
22. Kanner, J., Frankel, E., Granit, R., German, B., and Kinsella, J.E. (1994) Natural antioxidants in grape and wine. *J. Agric. Food Chem.* 42, 64-69.
23. Llaubères, R.M. (1988) Les Polysaccharides Sécrétés dans les Vins par *Saccharomyces cerevisiae* et *Pediococcus* species. Ph.D. Thesis. Université de Bordeaux II.
24. Llaubères, R.M., Dubourdieu, D., and Villettaz, J.C. (1987) Exacellular polysaccharides from *S.cerevisiae* in wine. *J. Sci. Food Agric.* 41, 277-286.
25. Lurton, L. (1988) Etude de la Protolyse Intervenant au Cours du Processus d'Autolyse Chez *saccharomyces cerevisiae*. Applications Oenologiques. Ph.D. Thesis. Université de Dijon.
26. Marteau, G., Scheur, J., and Olivieri, C. (1961) *Ann. Technol. Agric.* 10, 161-183.
27. Montedoro, G., and Bertucoli, M. (1985) IV Symposium International d'Oenologie, valence.
28. Müller-Späth, H. (1989) Vinification en blanc. Influence de l'oxygène et de la température avant la fermentation. In *Actualités Oenologiques, IV Symposium d'Oenologie de Bordeaux*. pp. 139-145. Dunod, Paris.
29. Olivieri, C. (1975) Considération sur l'évolution des activités enzymatiques lors du traitement thermique de la vendange à différents pH. *Prog. Agric. Vitic.* 7, 225-230.
30. Ollivier, C. (1987) Recherche sur la Vinification des Vins Blancs secs. Master's Thesis. Université de Bordeaux II.
31. Pilnik, W. (1982) Enzymes in the beverage industry. In *Use of Enzymes in Food Technology*, ed. Dupuy, P., Lavoisier, Paris, pp. 425-450.
32. Rapp, A., Hastrich, H., and Engel, L. (1976) Gaschromatographische Untersuchungen über die Aromastoffe von Weinbeeren. *Vitis* 15, 183-192.
33. Silva, A., Fumi, M., Montesissa, G., Colombi, M.G., and Cologrande, O. (1987) Effect of storage in the presence of yeasts on the composition of sparkling wines. *Conn. Vigne Vin* 3, 141-162.
34. Strauss, C.R., Wilson, B., Gooley, R.R., Williams, P.J. (1986) Role of monoterpenes in grape and wine flavour. In *Biogeneration of Aromas*, eds Parliment, T.H. and Croteau, P. ACS Symposium Series 317, American Chemical Society, Washington

DC., pp 222-242.

35. Villettaz, J.C. (1986) A new method for the production of low alcohol wines and better balanced wines. Proceedings of the Sixth Australian Wine Industry Technical
- Publisher.
36. Villettaz, J.C., Steiner, D., Trogus, H. (1984) The use of a beta glucanase as enzyme in wine clarification and filtration. Am. J. Enol. Vitic. 35, 253-256

謹德, 須謹於至微之事. 施恩, 務施於不報之人

덕행을 삼감에 있어서는 모름지기 아주 작은 일에 삼가고, 은혜를 베풀  
에 있어서는 받은 은혜에 대해 보답할 수 없는 사람에게 은혜를 베풀도록  
힘쓰라

- 채근담 -