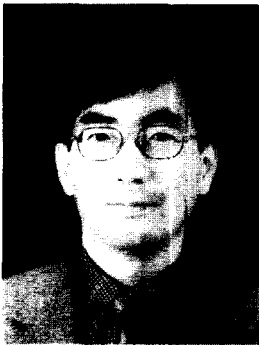


와인에서 발견되는 좋지 않은 냄새 성분들

I. 서론



박 승 국

〈경희대학교 생명과학부 교수〉

해가 갈수록 소비자들이 원하는 와인의 품질이 높아짐에 따라서 와인에서 발생하는 좋지 않은 냄새 성분들 즉, 이취성분(off-aroma compound)에 대한 연구도 매우 활발하게 진행되고 있다. 미국의 경우, 와인의 품질이 대단히 높아져서 비싼 값에 팔리는 현상은 미국 경제의 활황이 시작된 약 10년전부터이며, 고품질의 와인을 만들기 시작하면서부터 과거에는 문제가 되지 않았거나 또는 별 관심을 두지 않았어도 괜찮았던 좋지 않은 냄새에 대한 문제가 최근에는 매우 심각하게 대두되고 있다.

대부분의 주류에 존재하는 이취성분은 양적으로 극미량일뿐만이 아니라 화학적으로도 매우 불안정하므로 이취성분에 대한 연구는 매우 어렵고 까다로운 특성을 갖고 있다. 몇 가지 이취성분에 대한 연구는 오래 전부터 연구되어졌으나, 보다 과학적이고 체계적인 연구는 최근에 개발된 감도가 매우 높은 정밀분석기기의 발달 덕분에 가능하게 되었다. 따라서, 이취물질의 정체확인 및 방지 및 제거에 대한 체계적이고 과학적 연구를 시작한 것도 비교적 최근으로 볼 수 있다.

본 고에서 다루고자하는 와인의 이취성분은 다른 주류에서보다도 매우 다양하며 주류 중에서도 가장 연구가 많이 되어있다. 와인은 품종마다 특징적인 포도의 향과 발효에 의한 향

■ 목 차 ■

- I. 서론
- II. 와인에서 발견된 주요 이취 성분들
- III. 맛음말
- IV. 인용문헌

그리고 숙성에 의한 향에 의해서 최종적인 향 품질이 결정되므로 일단 이취가 발생하면 고유의 와인향에 영향을 미치지 않게 하면서 이취만을 선택적으로 제거하기가 매우 어렵다. 따라서, 와인은 다른 주류와는 달리, 한번 이취성분이 발생하면 제거하기가 매우 어렵기 때문에 가능한 와인의 모든 제조공정에서 이취가 발생하지 않도록 매우 조심하지 않으면 이취의 발생으로 인한 경제적인 손실이 매우 크게 된다. 비록, 우리 나라에서의 와인 생산량은 매우 적으나 와인의 향에 대한 연구가 전세계적으로 가장 많이 되어있고, 또한 술의 제조에는 효모에 의한 발효과정이라는 중요한 공통점이 있으므로 와인의 이취에 대한 연구 결과는 소주, 맥주, 전통주, 발효음료 등 여타 주류에 존재하는 좋지 않은 냄새성분에 대한 연구에 많은 참고가 될 수 있다. 본 고의 주요 내용은 필자가 지난 5월에 미국 캘리포니아대 주최로 Sonoma의 Santa Rosa에서 열린 와인의 이취에 대한 심포지엄(Taint necessarily so-detecting and identifying off-flavor in wine)에 연사로 초청되어서 발표한 내용을 포함해서 9명의 초청연사들이 발표한 내용과 그 동안에 발표된 논문 등을 정리하여 요약한 것으로서

미국, 유럽, 호주 등에서 연구된 최근의 연구 결과를 포함하고 있다.

II. 와인에서 발견된 주요 이취성분들

와인에서 발견된 주요 이취성분은 매우 다양하나 주로 크게 문제가 되는 종류는, 발효과정에서 효모에 의해서 생성되는 휘발성황화합물냄새(Volatile Sulfur Compound), Lactic Acid Bacteria (LAB)에 의한 Lactic Acid, Acetic Acid, Diacetyl 냄새, *Brettanomyces* 효모나 LAB에 의한 Mousiness (쥐오줌냄새), Cork 냄새 등이 있다. 이들 화합물들은 단독으로 또는 몇 가지가 혼합되어 와인에 존재하므로 써 와인의 품질저하에 많은 영향을 미치고있다.

1. 휘발성황화합물

휘발성황화합물(또는 황화합물)은 와인에 존재하는 이취성분 중에서도 가장 광범위하고 심각하게 문제가 되는 성분으로서 와인의 발효초기 단계에서부터 발생이 시작되어 소비자에 의해서 소비될 때까지도 발생이 될 수 있

<표 1> 와인에서 주로 발견되는 휘발성황화합물(Goniak & Noble, 1987)

휘발성황화합물	Sensory description	Sensory threshold (ng/mL, ppb)
Hydrogen sulfide (H ₂ S)	"rotten egg", "sewage-like"	0.5
Methyl mercaptan (MeSH)	"rotten cabbage", "burnt rubber or tire"	1.5
Ethyl mercaptan (EtSH)	"burnt match", "sulfidy"	1.1
Carbonyl sulfide (COS)	"sulfidy"	3.0
Dimethyl sulfide (DMS)	"canned corn", "cooked cabbage"	10.0
Dimethyl disulfide (DMDS)	"cabbage", "onion-like at high level"	15.0
Diethyl sulfide (DES)	"rubbery"	0.9
Diethyl dilsulfide (DEDS)	"garlic", "burnt rubber"	4.3

는 냄새성분이다. 황화합물의 특성은 휘발성이 매우 강해서 매우 낮은 농도에서도 냄새를 감지할 수 있으며 또한, 화학적으로도 매우 불안정하므로 여러 가지 화학반응을 통한 다양한 황화합물을 만드는 데에 있다. 따라서, 와인에는 그대로의 황화합물을 분석하여 발생원인과 처리방법 또는 발생을 근본적으로 방지하는 것이 무엇보다도 중요하나 현재까지도 화학반응 없이 있는 그대로 극미량의 황화합물을 분석하는 데에는 어려움이 많다.

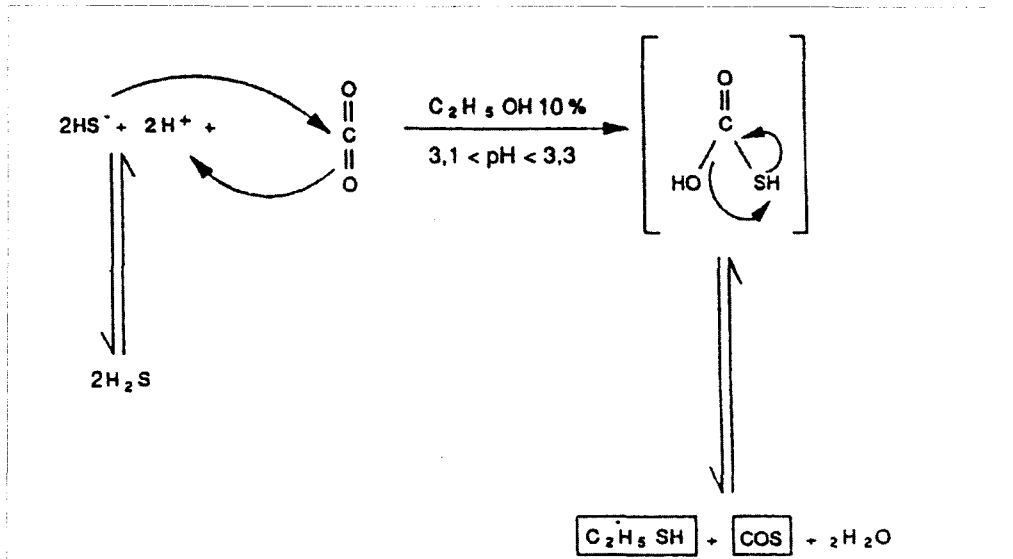
〈표 1〉은 와인에서 주로 발견되는 황화합물로서 H₂S는 썩은계란냄새, Methyl Mercaptan (MeSH)은 썩은 배추 또는 고무타는 냄새 등 1ppb 이하의 극미량으로서도 매우 자극적이고 불쾌한 냄새를 내게 한다.

황화합물 중에서 특히, 황화수소(H₂S)는 발효과정중에 효모에 의해서 1차적으로 생성이 된 후에 화학적인 반응에 의해서 2차적인 황 함유화합물로 변화하며, 발효음료의 제조시 사용되는 효모가 관련이 되어 만들어지는 화합물이므로 와인뿐만이 아니라 맥주, 위스키를

포함한 모든 주류에서 다양한 형태의 화합물로서 발견된다. 2차적인 황화합물이라 함은 H₂S를 제외한 나머지 화합물로서 예를 들면, MeSH는 실제의 와인조건에서 2분자의 H₂S가 발효가스인 CO₂와 반응하여 C₂H₅SH (EtSH)와 COS를 만들게 된다 [그림 1].

DMS의 경우에는 전구체인 Methionine등의 황 함유아미노산의 화학적 분해에 의해서 만들어질 수 있다. H₂S나 MeSH는 낮은 온도에서 휘발시켜 제거하거나 또는, H₂S와 불용성의 비휘발성물질을 만드는 CuSO₄를 첨가하여 어느 정도 제거할 수 있으나 DMS나 disulfide와 같은 산화된 2차황화합물은 한번 발생하면 제거가 불가능하거나 어렵게 된다. 특히, CuSO₄의 첨가는 가장 쉽고도 효과적으로 H₂S를 제거할 수 있는 방법이나, 최근에는 CuSO₄의 잔류농도를 0.25ppm 이하로(미국은 0.5ppm이하) 엄격하게 규제하고 있으므로 CuSO₄의 첨가만으로는 과량의 H₂S를 제거하기가 어려운 경우가 대부분이다. 올해 발생한 사건으로써, 호주의 10위내 규모의 와인제조회사에서 과량의

[그림 1] 와인조건에서 H₂S와 CO₂의 반응으로부터 EtSH와 COS의 생성



H₂S를 제거하기 위하여 CuSO₄를 첨가하였으나 허용된 농도의 CuSO₄첨가로는 제거가 불가능하자 허용되지 않은 다른 종류의 유독성 금속을 과량 첨가한 것이 당시 인턴으로 일을 하던 학생들에게 발견되어서 세상에 알려지게 되었다. 이 회사는 많은 량의 와인을 영국과 유럽국가에 수출하고 있었으며, 당시의 사건으로 이 회사의 수출허가가 보류되어 수출이 일시적으로 중단이 되었었고 호주의 모든 와인 회사가 감사를 받은 적이 있었다.

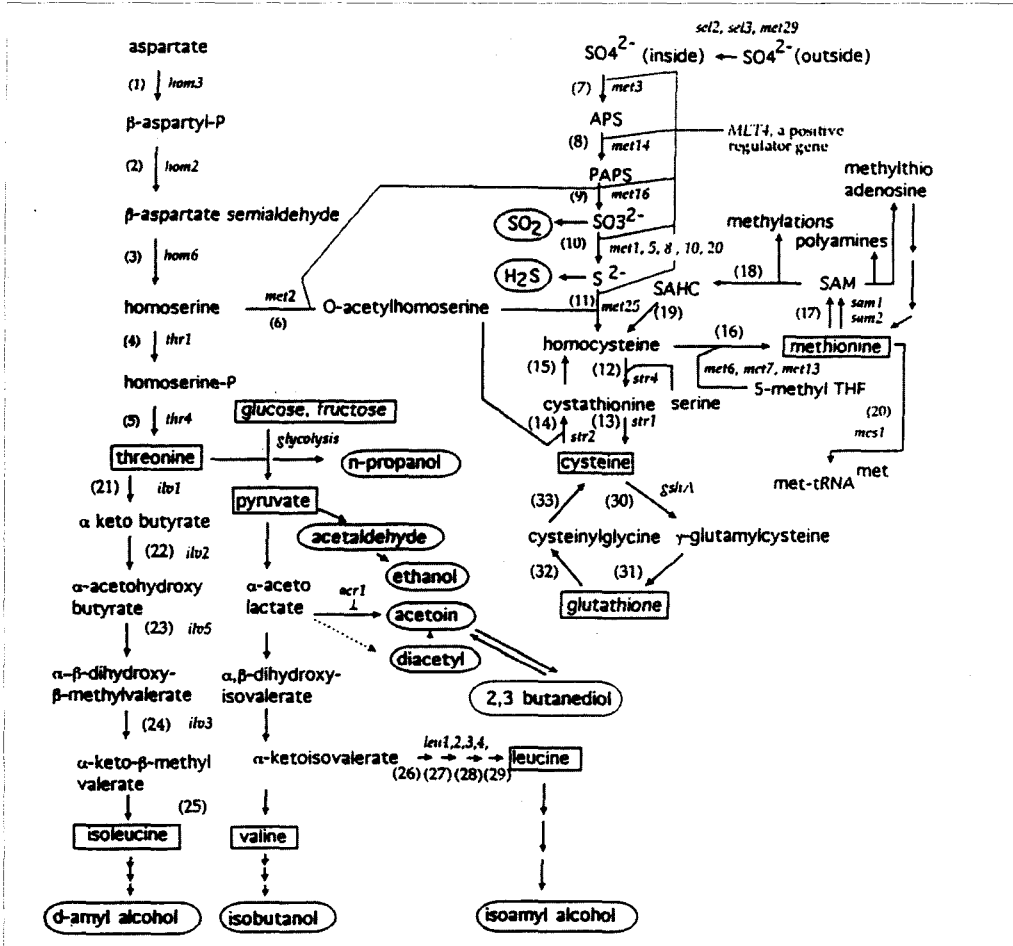
황화합물로 인한 냄새문제는 병입 후에도 발생이 될 수 있는데 특히, 병입당시에는 황화합물에 의한 이취가 없어서 병입 하였으나 병입 후의 저장이나 유통과정에서 황화합물에 의한 이취가 다시 발생하는 경우도 종종 있어서 황화합물을 다루기가 매우 어려움을 알 수 있다. 따라서 가능한 발효단계에서 부터 H₂S의 발생을 억제하는 것이 가장 바람직하다. H₂S의 발생을 발효초기부터 억제하려면 H₂S의 발생원인들에 대한 이해가 필요하다. 현재까지 알려진 H₂S의 발생원인으로는 효모의 종류, 포도표면의 유황원소, 발효포도즙의 영양분 상태, 발효조건 등이 있다.

1) 효모의 종류 : H₂S는 대부분이 발효과정에서 효모에 의해서 발생된다. 효모에서 발생하는 H₂S의 발생경로는 [그림 2]와 같다. 효모는 성장과 분열에 필요한 단백질의 합성을 위하여 아미노산을 합성하는데, 이때에 황함유 아미노산인 cysteine과 methionine 그리고 tripeptide인 glutathione을 만들기 위하여 효모는 여러 가지 유황원소(S⁰) 또는 sulfite나 sulfate와 같은 무기유황을 황환원경로 (Sulfate Reduction Pathway, SRP)를 거쳐서 H₂S로 환원시킨다. 이때에 황함유아미노산을 합성하기 위해서 필요한 양보다 더많은 H₂S를 합성하게 되면 과량의 H₂S는 효모세포 밖으로 나오

게 되어 결국은 와인에서 계란 썩은 냄새가 나게된다. 발효 중에 발생하는 H₂S는 발효가스인 CO₂에 의해서 대부분이 휘발되어 없어지나, 발효후반기에 CO₂의 발생이 적을 때에 발생하는 H₂S는 대부분이 발효종료 후에도 발효액에 그대로 남아있게 된다. 효모에 따라서 H₂S의 발생양이 많고, 적음은 결국 효모의 유전자에 따라 차이가 있음을 의미하며, 효모의 종류에 따른 H₂S의 발생양은 이미 잘 알려져 있다. 일반적으로, *S. cerevisiae*는 *S. bayanus*보다도 더 많은 양의 H₂S를 발생하는 것으로 보고되어있다 (Acree 등, 1972; Thomas 등, 1993a). 비록, 효모의 종류에 따른 H₂S발생 양 차이는 잘 알려져 있으므로 적은 양의 H₂S를 발생하는 효모를 사용하는 것이 H₂S에 의한 오염을 줄일 수 있는 방법이기도 하지만, 실제 대규모 생산규모의 발효시에는 적은 양의 H₂S발생 효모이나 H₂S에 의한 오염문제가 자주 발생하는 것이 현실이다. 이는 H₂S의 발생이 반드시 효모에 의한 것만은 아니고 다른 여러 가지 요인들이 복합적으로 작용하는 것으로서 H₂S에 의한 오염문제 해결이 결코 간단하지 않음을 의미하는 것이다.

2) 포도표면의 유황원소 : 포도의 표면에는 여러 종류의 황함유 무기화합물이 존재하며 이들의 종류는 elemental sulfur (유황원소, S⁰), sulfite, sulfate 등이다. 이들 중에서 유황원소는 포도재배시에 수시로 발생하는 powdery mildew (가루흰곰팡이)의 방제목적으로 사용하는 항곰팡이제제로써 주로 포도나무에서 포도송이가 형성될 즈음인 이른 여름을 전후해서 덥고 습한 기후 조건하에서 포도송이뿐만 아니라 잎과 줄기 전체에도 광범위하게 발생이 되므로, 발생징후가 보일 때에 신속하게 유황원소를 살포하여 가루흰곰팡이의 생육을 억제시킨다. 가루흰곰팡이는 포도의 당분이 울

[그림 2] *Saccharomyces* 효모에서 휘발성황화합물의 생합성 경로 (Univ. of California, Berkeley의 Robert Mortimer 교수 제공).



라감에 따라서 생육이 저해되나 경우에 따라서는 수확기를 앞두고 비가 오거나 날씨가 습해진 상태에서 온도가 상승할 경우에는 순식간에 포도나무 전체로 확산될 수 있다. 따라서, 방제목적으로 살포된 유황원소는 수확된 포도에 다량으로 잔류하게 되어 발효 시에 효모에 의해서 다량의 H₂S로 환원되어 발효 후에도 와인에 남아있게 된다. 유황원소가 H₂S 발생의 주요 요인임이 알려지면서 이를 대체할 여러 종류의 항곰팡이제제가 개발되었다. 이중 흰곰팡이의 sterol demethylation 저해제

(DMI)로써 Ralley, Rubigan, Bayleton 등이 널리 사용되었으나 해가 갈수록 곰팡이가 DMI에 대해서 저항성을 갖게되어 현재는 효과가 낮은 것으로 알려져있다. 따라서, 현재까지 가루흰곰팡이의 방제용으로써 가장 확실한 효과를 보이는 것은 유황가루뿐이며, 오히려 유황가루의 사용량은 해가 갈수록 증가하고 있는 실정이어서 H₂S에 의한 오염발생가능성이 증가하고 있다. 다량의 H₂S발생을 예방하기 위해서 적정량의 유황원소 살포량을 정하였는데 1헥타르당 13.4kg을 초과하지 않도록 권장하고

있다 (Thomas 등, 1993b).

3) 발효포도즙의 영양분 상태 : 발효포도액에 영양분이 부족하게 되면 발효속도가 늦어지게 되거나 발효가 중도에서 정지하게 되고 H₂S도 다량 발생하게 된다 (Park 등, 2000c). 와인제조회사에서는 발효액에 질소원이나 아미노산 등의 발효에 필요한 영양분이 부족해서 발생하는 다량의 H₂S발생을 방지하기 위하여 질소원이 되는 Diammonium phosphate (DAP)를 첨가하는 것이 관례로 되어있다 (Jiranek and Henschke, 1995). 즉, 효모가 영양분이 부족하게 되면 효모는 세포 내에 저장하고있는 glutathione 또는 황함유아미노산을 분해해서 H₂S를 만들기도 하는데, 발효과정에서 영양분이 부족하면 CO₂의 발생도 자연적으로 적게되어 많은 양의 H₂S가 발효액에 그대로 남아있게 된다. 또한, 발효초기에 황함유아미노산을 합성할 탄소전구체를 합성할 영양분이 부족하면 이미 합성된 H₂S는 결합할 탄소전구체를 찾지 못하여 세포 밖으로 배출이 된다. 영양분 부족 시에 발생하는 DAP의 첨가는 전 세계의 와인제조회사에서 널리 사용하고 있는 방법이나, 과량의 DAP첨가는 발암물질인 ethyl carbamate의 생성을 증가시키므로 사용량에 제한을 두고 있다. 또한, DAP의 첨가가 반드시 H₂S의 발생을 억제한다고는 할 수 없다. 즉, 효모가 초기 증식에 필요한 cysteine이나 methionine을 생합성하기 위해서는 H₂S의 합성과 탄소전구체인 *o*-acetyl homoserine과 *o*-acetyl serine의 합성을 필요로 하는데 [그림 2], 초기에 첨가하는 DAP는 탄소전구체를 제공해주는 데에 사용되므로 H₂S를 고정시켜주는 역할을 하게 되지만, 충분한 양의 단백질이 합성이 되었음에도 불구하고 발효 후반기에 계속적으로 발생하는 H₂S는 DAP를 첨가하여도 H₂S의 발생억제에 효과가 없으며, 오히려

발효를 중단시켜서 미생물에 의한 오염 가능성을 높이고 있다. 최근의 실험실적인 연구보고 (Jiranek and Henschke, 1995)에서는 DAP가 H₂S의 발생억제에 매우 효과적이라고 하나 실제 생산규모의 발효에서는 약 50%정도만 효과가 있고, 나머지 50%의 경우에는 발효 지연이나 중단 등 또 다른 심각한 문제가 있는 것이 현실이며 (Henschke, 개인서신), 이러한 불안정한 발효문제는 모든 와인제조회사에서 가장 시급히 해결해야할 문제로 대두되고 있다.

4) 발효조건 : 이미 언급한 3가지 주요 요소 이외에도 발효조건에 따라서 H₂S의 발생량이 달라질 수 있다. 발효조건과 H₂S발생량의 관계는 항상 일정하지가 않다. 그 이유는 위에서 언급한 주요 요인들과 함께 여러 가지 복잡한 발효조건이 관련되기 때문이다. 발효조건이라 함은 발효즙의 상태, 발효온도, 발효탱크의 크기, 발효시 교반 여부 등이 해당된다. 일반적으로, 동일한 발효액일 경우에는 발효액의 온도가 높을수록 더 많은 양의 H₂S가 발생하게 된다. 서로 다른 발효즙의 경우에는 적와인에서 더 많은 양의 H₂S가 발생되는데, 이는 적와인의 경우 포도의 껍질을 함께 발효시키므로 포도껍질에 남아 있는 유허원소나 sulfite, sulfate가 H₂S로 환원되는 양이 더 많기 때문이다. 또한, 적와인은 백와인보다도 발효온도가 훨씬 높으므로 효모의 성장과 분열이 왕성하여 발효초기에 많은 양의 H₂S를 합성할 수 있기 때문이다. 그러나, 발효가 왕성할 때에는 CO₂의 발생량도 많아져서 발생된 대부분의 H₂S가 휘발에 의해서 날아갈 수 있으므로 발효 후에 남게되는 H₂S의 양은 적을 수도 있다. 발효시의 온도가 낮은 백와인의 경우에는 발효온도가 높을 때보다도 H₂S의 양은 적으나, 발생된 CO₂의 양도 적고 발효액의 온도가

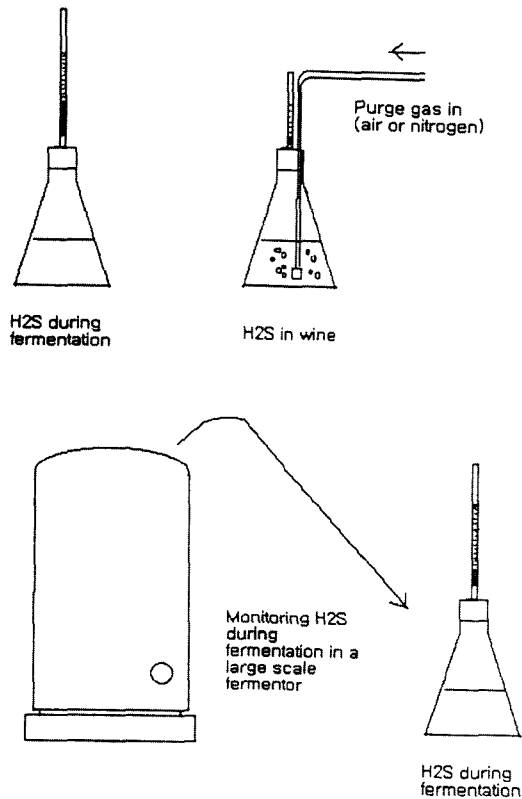
낮으므로 휘발에 의한 손실도 낮게 된다. 따라서, 최종적으로 와인에 남게되는 H₂S의 양은 생성된 H₂S와 CO₂에 의해서 휘발되는 H₂S양과의 차이라고 볼 수 있다. 발효탱크의 크기도 잔류 H₂S양에 영향을 미친다. 즉, 소규모의 실험실발효에서는 매우 낮은 양의 H₂S가 발생하였으나, 실제 대규모의 발효탱크에서는 발생된 H₂S의 휘발은 발효조 상부에서 CO₂에 의한 압력이 높아서 휘발이 어려울 뿐만이 아니라 발효액의 환원력이 매우 높아서 H₂S의 생성에 매우 유리한 조건이 되기 때문이다. 실제적으로, 실험실에서는 H₂S문제가 없었으나 대규모 발효탱크에서는 문제가 되는 경우가 바로 이러한 발효조의 크기와 교반 그리고 발효액의 산화-환원력 등의 조건이 다르기 때문이다(Park and Noble, 1994).

이상과 같이 와인에서 발생하는 황화합물의 오염과 관련된 요소는 매우 다양하므로, 현재 까지도 다량의 H₂S발생을 사전에 예측하기가 매우 어려운 상황이다. 또한, 화학적으로 불안정하고 극미량의 농도로써 냄새가 나므로 분석이 매우 까다롭다는 것이 또한 황화합물의 문제해결을 어렵게 하고 있다. 현재 캘리포니아를 포함하여 전세계적으로 고급(premium) 또는 최고급(ultra-premium)와인의 공급이 부족한 실정이다. 따라서, H₂S의 오염에 따른 품질의 저하는 계속적으로 문제가 되고 있고, 특히, 발생된 H₂S의 제거공정 마다 비용 및 품질의 저하는 피하기가 어려운 실정이다. 그러나, H₂S의 발생은 예측이 불가능하므로, 현재로서는 H₂S에 의한 오염이 발생되면 어떻게 효과적으로 처리하느냐에 더 관심을 두고 있다. 물론, 사전에 예방하는 것이 가장 좋은 대책이기는 하나 현실은 그러하지 않으므로 오염된 와인의 처리방법에 더욱 노력을 하고 있다. 지난 5월에 캘리포니아의 Sonoma에서 개최된 Symposium에서 필자는 황화합물에 대한

문제점과 해결방법을 제시하였다 (Park, 2000a). 특히, H₂S의 발생을 사전에 예방하기 위한 방법이 참석자들에게 많은 관심을 갖게 하였다. 사전 예방의 방법으로써 우선, 포도수확기 1주일 전에 포도를 수확하여 포도의 표면에 묻어있는 유황원소의 양을 측정하며, 동시에 사용 예정인 효모를 직접 포도액을 사용하여 발효실험을 하므로써 사전에 다량의 H₂S가 발생할지 여부를 시험하는 것이다. 문제는 H₂S 발생총량을 어떻게 측정하는가에 대한 것이다. 필자가 개발한 방법은 H₂S측정용 튜브를 사용하는 것으로써 튜브내부에는 발효과정에서 발생하는 H₂S만을 선택적으로 흡착하여 발색시키는 물질이 균일하게 충전되어있고, 충전된 튜브는 표준 용량의 순수 H₂S가스로써 정밀하게 보정되어져 튜브 표면에 눈금으로써 절대량이 표시되어 있으므로 발효과정에서 발생하는 H₂S의 총량을 매우 정확하고 재현성 있게 측정할 수 있다는 것이다 [그림 3].

이 측정용 기구는 길이가 약 12cm에서 30cm로써 일회용이며 발효용량에 따라서 튜브의 크기 및 흡착용량을 달리하고 있다. 이 H₂S측정용 튜브를 사용하므로써 수확기를 즈음하여 포도표면에 잔존하는 유황원소의 양을 매우 쉽고 빠르게 측정할 수 있으며 (residual sulfur determination), 다양한 종류의 효모를 온도나 영양분 등 여러 조건하에서 동시에 발효실험 하므로써 낮은 양을 발생하는 H₂S효모의 선별과 (yeast screening), 대규모 발효시에 소량의 발효액 (300mL정도)을 탱크로부터 취하여 실제 대규모탱크에서 발생하는 H₂S의 양을 측정 (parallel monitoring)할 수 있으며, 발효가 종료된 와인이나 병입 예정인 와인에 존재할 수 있는 잔류 H₂S의 측정도 가능하다 (Park, 1999). 현재, H₂S측정용 튜브 및 측정방법은 발효음료에서 H₂S측정용도로서는 세계 최초이며 이미, 미국특허 (Park, 2000b)를 획

[그림 3] H₂S 측정용 튜브의 사용 예. 실험실규모의 발효시 발생하는 H₂S의 측정(좌측 상), 발효종료 또는 와인제품의 H₂S농도 측정(우측 상), 대규모 발효탱크의 H₂S 발생 monitoring(아래그림) (Park, 2000a).



특하였고 유럽국가들과 일본 호주 등 주요 와인과 맥주 생산국에는 특허출원중이다. H₂S 측정용 튜브는 와인뿐만이 아니라 맥주, 위스키 등 기타 발효음료에 널리 활용될 수 있으므로 황화합물문제를 획기적으로 해결할 수 있는 기구 및 방법이다.

2. Diacetyl

일반적으로 알고 있는 diacetyl (2,3-butanedione)은 발효가 끝난 후에 와인의 신맛 성분인 malic acid나 citric acid의 농도를 감소

시키고 동시에 부드러운 버터향(buttery)과 고소한 구운견과류향(nutty)을 내기 위하여 인위적으로 접종한 *Leuconostoc oenos*에 의해서 생성이 되는 바람직한 화합물이며, 최소감지농도는 약 0.3mg/L (0.3 ppb)이다(Meilgaard and Reid, 1979). 이처럼 *Leuconostoc oenos*에 의해서 만들어진 바람직한 diacetyl의 경우에는 1에서 4mg/L의 범위에서 와인의 향에 좋은 영향을 줄 수 있으나, *Pediococcus*와 같은 오염박테리아에 의해서 발생한 과량의 diacetyl은 좋지 않은 버터냄새 또는 쉰 냄새가 날 수도 있다. 와인에서 유기산에 의한 어느 정도의 신맛

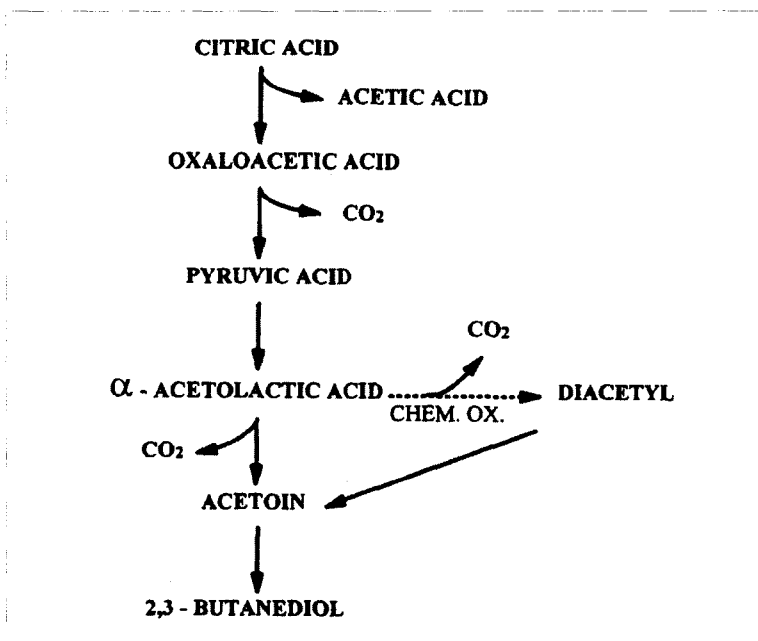
은 와인의 전체적인 조화로운 맛을 위해서는 바람직하나 과도한 신맛은 와인의 품질을 저하시킨다. 따라서, 신맛의 제거공정은 와인의 제조에서 대단히 중요한 과정의 하나이다. 포도의 신맛성분 중에서 대부분을 차지하고 있는 유기산은 tartaric acid로써 신맛의 강도 및 자극이 매우 강하여 제거하여야 하며, tartaric acid는 저온에서 결정화가 되므로 결정화한 후에 filtration으로 쉽게 걸러낼 수가 있다. 반면에 malic acid나 citric acid는 결정화되지 않으나, 다행스럽게도 *Leuconostoc oenos*는 신맛 성분인 malic acid와 citric acid를 대사 시켜서 신맛을 낮추어주는 동시에 버터향이나 고소한 구운견과류와 같은 바람직한 향성분으로 바꾸어 줌으로써 와인의 맛과 향품질을 높이는 데에 큰 기여를 하고 있다. 이 과정을 malolactic fermentation (MLF)이라고 하며, citric acid에 의한 대사과정은 [그림 4]에 있다. MLF을 통

해서 신맛을 줄이고 좋은 향을 얻는 공정은 의외로 까다롭다. 또한, 종종 원치 않는 박테리아에 의해서 오염이 되어 좋지 않은 상한 버터냄새가 강하게 나는 경우에는 발효 종료된 와인과 새로운 발효포도액을 섞어서 *S. cerevisiae*로써 재발효를 시키면 diacetyl은 냄새가 매우 약한 acetoin으로 바뀌므로 냄새문제를 쉽게 해결 할 수 있다.

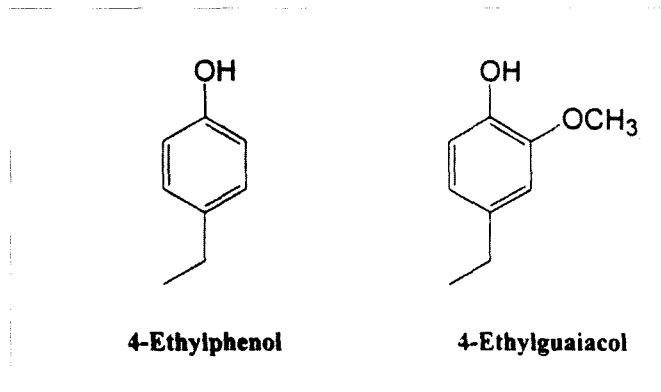
3. *Brettanomyces/Dekkera* 효모에 의한 냄새

Brettanomyces/Dekkera (B/D)에 의하여 만들어지는 성분들은 두 가지로 분류할 수 있는데, 하나는 휘발성 phenol성분으로서 4-ethylphenol과 4-ethylguaiacol이며 [그림 5], 냄새의 특성은 “마굿간냄새”, “가죽냄새”, “병원소독약냄새”, “땀에 절은 말안장냄새” 등으로 표현된다 (Pollnitz등, 2000).

[그림 4] *Leuconostoc oenos*에 의한 citric acid의 주요 대사경로와 diacetyl의 생성 (Nielsen and Richelieu, 1999)



[그림 5] 4-ethylphenol과 4-ethylguaiacol의 구조.



이들 성분들의 근원은 적포도에 많이 있는 *p*-coumaric acid와 ferulic acid들로부터 시작하여 발효과정에서 B/D효모에 의해서 만들어진다. 따라서 이들 성분들은 붉은 와인에서 종종 발견되며 한번 발생되면 제거가 거의 불가능하므로 제거보다는 방지에 많은 노력을 하여 왔다. B/D에 의해서 만들어지는 또 다른 종류의 냄새성분은 “쥐오줌냄새”를 내는 원인 성분인 ethyl-tetrahydropyridine (ETPY), acetyl-tetrahydropyridine (ACTPY), acetyl-pyrroline (ACPY)들이다 [그림 6]. 이들 성분들은 B/D 뿐만이 아니라 lactic acid 박테리아인 *Lactobacillus* spp.에 의해서도 만들어지며 (Heresztyn, 1986), 이들 중에서 ACTPY는 최소감지농도가 1.6 μ g/L(ppb)로서 매우 낮은 농도에서도 와인에 “쥐오줌” 같은 냄새를 내게 된다. “쥐오줌냄새”는 매우 역겨운 냄새이나 개인에 따라서 냄새에 둔감한 사람도 있다. 만일 냄새의 구별이 어려운 경우에는 “쥐오줌냄새”의 의심이 있는 와인을 양손가락이나 또는 손바닥에 문혀서 손가락이나 손바닥을 비빈 후에 냄새를 맡아보면 매우 불쾌한 냄새를 확실하게 확인할 수 있다. 현재까지 와인에서 “쥐오줌냄새”가 발생하는 빈도는 그리 높지 않았으나, 한번 발생하면 매우 불쾌한 냄새가

나고 또한 제거할 수 있는 방법이 없으므로 와인업계에 큰 경제적인 영향을 미칠 수 있다.

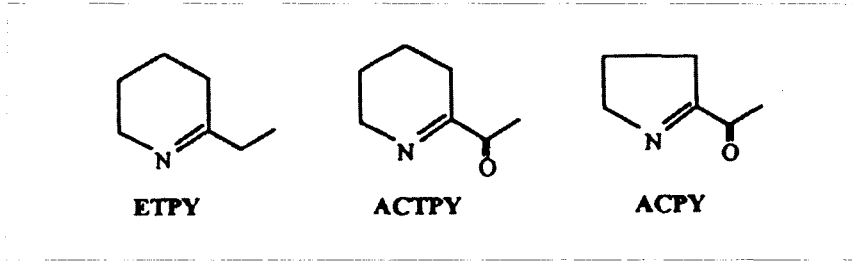
비록, 드문 경우로서 B/D는 벨기에 맥주인 Lambic과 Gueuze맥주에 다소 특징적인 냄새를 내게 할 수도 있다고 보고되어 있으나 (Verachtert 등, 1990), 대부분의 맥주 (Rainbow, 1981)나 음료수(Smith and van Grinsven, 1984)에서는 오염의 원인이 되는 효모이다.

4. Acetic acid와 lactic acid 냄새

와인에 시큼한 냄새를 내게 하는 성분은 주로 lactic acid bacteria (LAB)에 의해서 생성되는 lactic acid와 acetic acid(volatile acidity)로써, 일반적으로 신선한 포도와 순수한 효모에 의한 발효일 경우에도 약 0.03에서 0.06%의 acetic acid가 만들어진다. Lactic acid일 경우에는 D-lactic acid가 문제가 되며 Malolactic fermentation에 의해서 만들어지는 L-lactic acid의 경우에는 문제가 되고 있질 않고 있다. D-lactic acid는 *Lactobacillus*와 *Pediococcus* 중에서 homofermentative종에 의해서 당의 발효 과정을 거쳐서 생성이 된다. LAB는 위 두 가지 성분 이외에도 다량의 mannitol을 만드는데

[그림 6]

와인에서 “쥐오줌냄새”의 원인이 되는 성분의 구조(Costello 등, 1999).



이들 3가지 화합물로서 와인의 불량여부를 쉽게 판별할 수 있다. 이들 화합물들이 다량으로 함유되어있을 경우에는 식초와 같은 냄새가 나며 종종 많은 양의 histamine을 함유하기도 한다. 또한, 오염된 박테리아는 histamine이외에도 여러 종류의 아미노산을 탈카르복실화하여 phenethylamine, tyramine, putrescine, spermidine과 같은 아민을 생성하기도 한다 (Lafon-Lafourcade, 1983). LAB는 특히, 발효 과정에서 발효가 더디거나 또는 중단되어서 발효에 이용이 안된 당이 남아있는 경우에 쉽게 번식하게된다 (Henschke, 1996). 최근에는 와인의 맛을 좀더 깊고 풍부하게 만들기 위하여 발효 후에도 효모를 걸러내지 않고 계속 오랜동안 저장하는 경우가 많은데 이때에 이스트로부터 분해된 풍부한 영양분으로 인해서 오염이 되기도 한다.

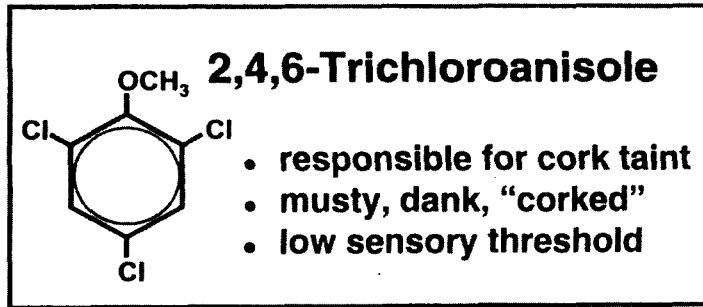
5. Cork냄새

와인은 주류제품에서 가장 많은 Cork를 사용하고 있다. 물론 고급 코냑, 브랜드, 리큐에서도 사용이 되어지고 있으나 대부분의 고급 와인은 마개로써 반드시 cork재질을 사용하고 있다. 따라서, 와인제조회사에서는 cork냄새로 인한 품질저하를 방지하기 위하여 대단히 많은 관심과 신경을 쓰고있는 실정이다. Cork마개가 주류의 품질에 미치는 영향에 대한 자세

한 내용은 이미 주류산업 (99년 1호)에 실려 있으므로, 본고에서는 최근의 연구결과에 대해서 언급하고자 한다. 미국에는 Cork Associates와 Cork Supply USA등 5개의 주요 cork마개 제조 및 판매회사가 있는데, 이들은 대부분 cork의 주산지인 포르투갈로부터 1차 가공된 반제품cork를 수입해서 세척, 살균, 인쇄, 코팅 등의 2차 가공을 한 후에 미국의 와인회사에 판매하고 있다. 이들 회사들을 대표하는 협회가 Cork Quality Council (CQC)이고, CQC에서는 지난 3년간 약 4억원의 연구비를 투자하여 cork이취에 대한 분석적 연구를 수행하였으며, 이번 5월에 개최된 Symposium에서 그 결과의 일부를 발표하였다. 현재까지 cork로 인한 냄새 특성은 축축한 지하실에서 나는 곰팡이냄새, 흙냄새 등으로써 냄새의 주범은 2,4,6-trichloroanisole (TCA)로 알려져 왔다[그림 7].

TCA는 백와인에서 6ppt정도의 낮은 농도에 서도 감지되고 구별이 되는 성분이며 붉은 와인일 경우에는 감지 농도가 이보다 약간 높다. CQC에서 수행한 연구의 목적은 현재 사용하고 있는 주관적인 검사방법인 코로 냄새맡는 방법을 정밀 분석적인 객관적인 방법으로 대체하는 것과, 이를 위한 cork냄새의 효과적인 추출절차, 분석을 위하여 추출된 cork성분과 실제 와인병의 cork에서 발생하는 냄새와의 상관관계를 정립하여 객관적이고 신뢰성이 높은 방법으로써 cork의 품질관리를 하는 데에

[그림 7] 2, 4, 6-trichloroanisole(TCA)의 구조



있었다. Cork냄새의 주범인 TCA의 오염원은 천연cork에 있는 chlorophenol로서 cork에 자연적으로 존재하는 곰팡이에 의해서 TCA로 변화시키는 것으로 알려져 있으며, TCA 단독으로 cork의 독특한 이취를 내지는 않으나 이취를 내는 cork의 70-80%는 반드시 TCA가 존재하므로 cork이취의 대표적인 지표물질로 보고 있다. TCA의 특징은 극미량의 농도에서도 와인의 좋은 향을 억제하는 동시에 TCA의 강력한 냄새를 나게 하므로써 와인의 품질에 매우 심각한 영향을 주고 있다. 이러한 극미량의 TCA를 분석하기 위해서는 특별한 기술과 기구가 필요하다. CQC의 지원으로 얻어진 연구 결과에 따르면 solidphase microextraction(SPME)이 다른 기구보다도 TAC의 흡착과 농축에 매우 유용한 시료처리기구이며, 흡착된 TCA의 분석은 gas chromatograph-mass spectrometer(GC-MS)를 simultaneous ion monitoring (SIM) 방법으로 검출 및 정량하는 것이 가장 좋은 것으로 보고하고 있다. 이러한 시료처리 및 검출방법에 의하면 최소 1.0ng/L (ppt)까지의 검출이 가능하므로 코로써 감지할 수 있는 한계농도인 6ng/L(ppt)보다 낮은 농도의 TCA를 분석할 수 있게 된다. Cork로부터 TCA를 추출하기 위해서는 우선 cork가 담겨있는 백 (bale이라고 부르며 약 6,000개가 담겨있음)으로부터 약 100개의 cork를 임의로

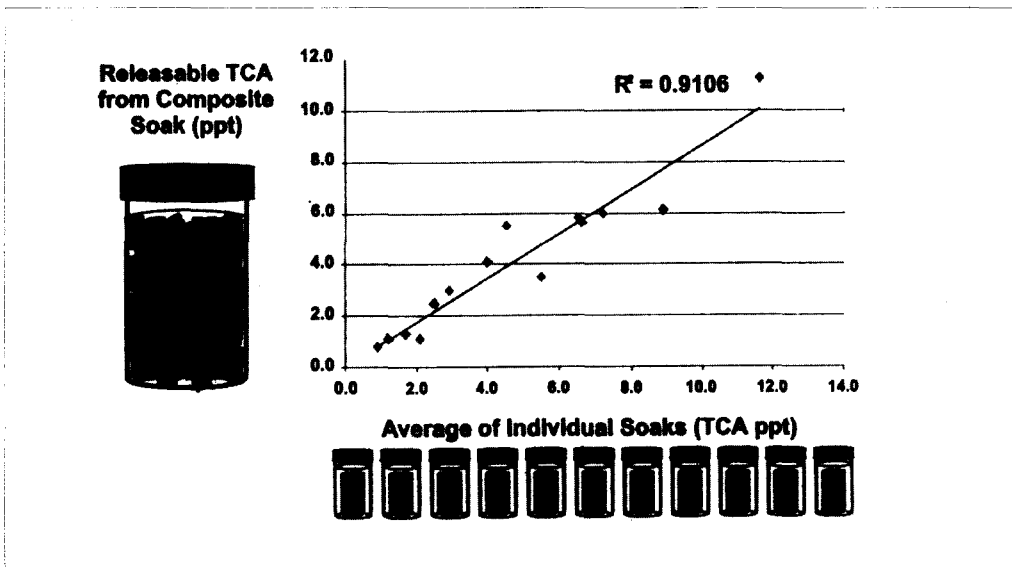
취해서 4 L의 유리병에 넣은 후에 여기에 10%의 알코올을 함유한 1.5 L의 냄새가 특별히 없는 백와인을 넣고 하루(24시간) 동안 실온에서 우려낸다. 우려낸 와인의 일부(5mL)를 12mL의 SPME용 vial에 넣고 SPME로 흡착시킨 후에 GC-MS로 분리, 검출 및 정량을 한다. 보통 한 개의 cork백 (bale)에는 약 6,000개의 cork가 담겨져 있으며, 이 중에서 100개의 cork를 백에 있는 6,000개 전체 cork를 대표하는 것으로 가정하여 분석하는 방법이다. 물론, 100개의 cork가 6,000개의 cork를 정확하게 대표한다고는 볼 수 없으나 한해에도 미국에서만 십억개의 cork를 사용하는 현실을 감안하면 한개의 백에서 100개의 숫자는 최소한의 대표시료로 간주할 수 있으며, 만일 100개시료로부터 추출된 액에서 기준이상으로 TCA가 검출될 시에는 6,000개 전체의 cork개를 불합격품으로 간주하여 반품하도록 되어있다. 실제 무작위로 100개의 cork를 취한 후에 한 용기에 넣어서 함께 추출하여 분석한 경우와 100개의 cork를 한 개씩 각각 추출하여 분석한 것에 대한 추출결과를 합한 값과는 직선적인 상호관계가 있는 것으로 연구되었다 [그림 8].

그러면, 이러한 문제가 되는 cork가 실험실적인 24시간 추출일 때와 실제 장시간 와인병에서 보관될 때에 추출되는 양과는 어떠한 관계가 있을까? 실험결과 cork를 10%알코올로써

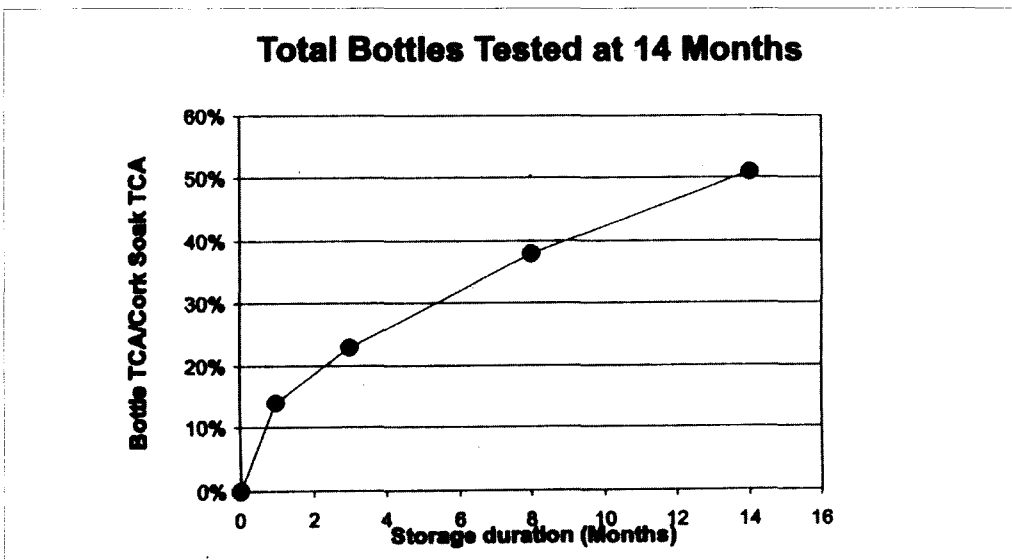
직접 추출하였을 때에는 24시간 내에 추출용기 내부에서 추출액과 휘발된 TCA가 평형상태에 도달하였으나, 실제 병입된 와인의 경우

에는 3개월이 경과한 후에는 약 23%의 TCA가 cork로부터 와인으로 용출이 되었으며 14개월이 경과된 후에는 51%의 TCA가 cork로부터

[그림 8] 100개의 cork를 합해서 추출하여 TCA를 분석한 결과와 개별적으로 분석한 결과와의 상관관계



[그림 9] Cork의 TCA를 실험실적으로 추출하여 분석한 경우와 실제 와인에서 용출된 TCA를 분석한 결과와의 상관 관계



터 와인으로 옮겨졌다[그림 9]. 결과적으로 10%알코올용액으로 추출하여 SPME로 분석한 결과로써 저장 또는 유통기간 동안에 얼마만큼의 TCA가 cork로부터 실제 와인에 용출되는지를 예측하는 것이 가능하게 되었다.

III. 맛 음 말

와인처럼 매우 다양한 종류의 향과 맛을 갖고 있는 술도 없다. 와인의 향이 매우 다양하듯이 와인의 이취성분도 매우 다양하다. 이처럼 복잡하고 다양한 이취성분에 대한 체계적이고 분석화학적인 연구는 최근에 개발된 정밀분석기기와 연구자의 끊임없는 노력 덕택이다. 이취의 원인이 되는 화학성분들을 확인함에 따라서 이들의 발생원인과 경로의 확인이 가능하게 되었으며, 결과적으로 이취의 발생을 방지하거나 발생된 이취의 제거도 가능하여 고품질의 와인을 제조하는 데에 많은 기여를 하고 있다. 물론, 현재까지도 와인의 이취문제에 대해서 해결이 안되고 있거나 해결이 어려운 문제들도 있으나, 해가 갈수록 정밀기기의 발달과 연구의 질이 향상 되므로써 앞으로 더욱 많은 이취문제가 해결될 수 있으리라 예상 할 수 있다. 비록, 우리나라는 와인생산량이 매우 적으므로 와인에 대한 이취문제에 관심이 적으나 와인에서 보고된 다양한 이취에 대한 연구결과가 우리나라에서 만드는 주류들의 이취문제를 이해하고 해결하는 데에 도움이 되기를 바란다.

IV. 인용문헌

1. Acree, T. E., E. P. Sonoff, and D. F. Splittstoesser. Determination of hydrogen sulfide in fermentation broths containing SO₂. *Appl. Microbiol.* 22:110-112 (1971).
2. Costello, P. J., and T. H. Lee, and P. A. Henschke. Mousy off-flavour spoilage of wine by lactic acid bacteria. In: *Oenologie 99 6e Symposium, International D'Oenologie. Bordeaux*, pp 226-230 (1999).
3. Goniak, O. J., and A. C. Noble. Sensory study of selected volatile sulfur compounds in white wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 38:223-227 (1987).
4. Henschke, P. Stuck fermentation: causes, prevention and cure. In: *Proceedings ASVO Oenology seminar, Advances in juice clarification and yeast inoculation*. M. Allen, P. Leske, G. Baldwin, eds. August 15, 1996, Melbourne, Australia. pp 30-41 (1996).
5. Heresztyn, T. Formation of substituted tetrahydropyridines by species of *Brettanomyces* and *Lactobacillus* isolated from mousy wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 37:127-132 (1986).
6. Jiranek, V. P., and P. A. Henschke. Amino acid and ammonium utilization by *S. cerevisiae* wine yeasts from a chemically defined medium. *Am. J. Enol. Vitic.* 46:75-83 (1995).
7. Lafon-Lafourcade, S. Wine and brandy. In: *Food and feed production with micrororganism*. Biotechnol. Vol. 5, G. Reed, ed. Verlag Chemie, Weinham, Germany. pp 81-163 (1983).
8. Meilgaard, M. C., and D. S. Reid. Determination of personal and group thresholds and use of magnitude estimation in flavour chemistry. In: *Progress in flavour research*, ed. D. G. Land and H. E. Nursten, London, Applied Science

- Publisher Ltd, pp 67-77 (1979).
9. Nielsen, J. C., and M. Richeieu. Control of flavor development in wine during and after malolactic fermentation by *Oenococcus oeni*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:740-745 (1999).
 10. Park, S. K. A new method to determine hydrogen sulfide in alcoholic beverages. Presented in American Society of Enology and Viticulture (ASEV) 59th annual meeting, Reno, Nevada. *Am. J. Enol. Vitic.* 50:382 (abstract page) (1999).
 11. Park, S. K. Sulfide problems and practical solutions. In: Proceedings on "Taint-necessarily so: detecting and identifying off-flavors in wine. May 19, 2000, University of California, Davis, U. S. A. (2000a).
 12. Park, S. K. Hydrogen sulfide detection tube in alcoholic beverages. (US Patent no. 6,133,041). (2000b).
 13. Park, S. K., R. B. Boulton, and A. C. Noble. Formation of hydrogen sulfide and glutathione during fermentation of white grape musts. *Am. J. Enol. Vitic.* 51:91-97 (2000c).
 14. Park, S. K., and A. C. Noble. Analysis of volatile sulfur compounds in wines. In: Symposium International, connaissance aromatique des sepages at qualite des vins. 9-10 Fevrier, 1993, Montpellier, France. pp 328-334 (1994).
 15. Pollnitz, A. P., K. H. Pardon, and M. A. Sefton. Quantitative analysis of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol in red wine. *J. Chromatography A.* 874:101-109 (2000).
 16. Rainbow, C. Beer spoilage microorganism. J. R. A. Pollock, ed. *Brewing Science.* London, Academic Press. pp 491-550 (1981).
 17. Smith, M. T., and van Grinsven, A. M. *Dekkera anomala* sp. nov., the teleomorph of *Brettanomyces anomalus*, recovered from spoiled soft drinks. *Antonie van Leeuwenhoek.* 50:143-148 (1984).
 18. Thomas, C. S., R. B. Boulton, M. W. Silacci, and R. Miller. Changes in elemental sulfur residues on Pinot noir and Cabernet Sauvignon grape berries during the growing season. *Am. J. Enol. Vitic.* 44:205-210 (1993a).
 19. Thomas, C. S., R. B. Boulton, M. W. Silacci, and W. D. Gubler. The effect of elemental sulfur, yeast strain, and fermentation medium on hydrogen sulfide production during fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 44:211-216 (1993b).
 20. Verachtert, H., S. Kumara, and E. Dawoud. Yeasts in mixed cultures with emphasis on lambic beer brewing. Verachtert, H. De Mot, R., eds. *Yeast, biotechnology and biocatalysis.* NY, Marcel Dekker, pp 429-478 (1990).