

제 1차 년도
최종완결보고서

맥아 제조에 관한 실증 연구

Practical studies on the production
of malt.

충남대학교 농과 대학

농 립 수 산 부



제 출 문

농림수산부장관귀하

본 보고서를 “맥아제조에 관한 실증 연구” 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

1995. 12. .

주관연구기관명: 충남대학교 농과 대학

총괄연구책임자: 오만진

연 구 원 : 김혜정, 최성현, 이상덕

협동연구기관명: 태안군 남면 농업협동조합

협동연구책임자: 가성현

협동연구기관 : 충남농촌진흥원 아산군

농촌지도소

협동연구책임자: 조미경

협동연구기관 : 태양 식품

협동연구책임자: 오도영

요 약 문

I. 제목

맥아제조에 관한 실증연구

II. 연구개발의 목적 및 중요성

보리는 쌀 다음가는 주식으로 사용하여 왔으나 식생활이 변화됨에 따라 그의 소비는 아주 적은 실정이다. 보리에는 각종 영양소외에 glucan, phenol계 성분이 들어 있어 기능성이 높은 소재로 알려지고 있으며 보리를 식용으로 하면 식량자원의 활용도를 높일 수 있다. 또한 근래 식혜의 소비가 많아지면서 식혜 제조에 당화 효소제로 이용되는 맥아 제조는 오랜 옛날부터 농가에서 자가 생산하여 식혜, 장류, 엿 제조 등에 이용하여 왔으므로 농가나 농민 단체 등에서 비교적 시설, 설비 등이 적게 들고 고도의 기술을 필요로 하지 않을 뿐만 아니라 사업에 대한 실패 위험성이 적기 때문에 맥아를 제조하여 판매함으로써 수익을 올리려는 시도를 하고 있다. 그러나 맥아 제조 방법이 경험으로 터득한 채래 방법에 의존하고 있어 생산 제품의 효소 역가가 낮고 곰팡이, 세균 오염등으로 인하여 異臭등이 발생하므로 제품의 품질이 떨어져 많은 손실을 초래하였다.

본 연구의 추진 동기는 맥아 제조시 보리 발아조건, 건조조건 등을 확립하여 농가, 농민 단체에 맥아 생산에 적용할 수 있는 자료를 제공함으로써 보리의 부가가치를 높이고 농민의 소득증대와 식생활 향상에 기여하고자 본 연구 사업을 수행하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 양질의 맥아 제조 조건을 검토하기 위하여 대맥을 침지하여 발아시킬 때 발아 과정중 α -amylase, β -amylase의 역가를 측정하고 맥아 품질 향상을 위한 생장조절제 처리, 알카리 처리, 오존 처리 효과를 조사하였으며 연

구내용과 범위를 요약하면 다음과 같다.

- (1) 맥아제조를 위한 보리 품종의 선정
- (2) 맥아 제조조건의 확립(침지 시간, 발아두께)
- (3) 생장조절제 처리와 효소 역가
- (4) 오존, 알카리처리와 효소 역가
- (5) 맥아의 건조조건
- (6) 맥아를 이용한 조효소제 개발

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

맥아는 장류 및 식혜 제조 등의 당화제로 수요가 많아 농가, 농민 단체나 소규모 공장에서 생산하여 시중에 판매 하거나 식품공장에 납품하여 이용되는 실정이다. 또한 맥아 제조는 고도의 기술을 요하지 않는 단순 가공으로서 부가가치는 낮지만 사업으로서의 실패 가능성이 없기 때문에 소규모로 많이 생산하고 있으나 맥아 제조 방법에 따라 효소역가에 있어 현저한 차이가 있으므로 제품의 질이 떨어진 것을 잘못 구입하여 식품가공에 이용하다보면 최종제품의 질이 떨어지는 문제를 야기하게 되었다.

본 연구에서는 품종에 따른 효소역가, 알카리 처리 농도, 오존처리방법, 생장조절제 처리 농도 및 방법, 건조 방법에 대한 결과를 맥아 제조공장에 적용하기 위하여 기술 지도할 필요성이 있으며 기술 적용에 있어 재래식 방법에 비하여 오존 발생장치 시설비와 재료비의 추가 비용이 요구된다.

공장규모의 맥아를 제조하고 있는 업체로 등록하여 조합형태를 만들어 맥아 생산에 관한 기술 정보를 교환하고 기술을 교육함으로써 양질의 맥아를 제조할 수 있을 것이며 연구 결과를 필요로 하는 자에게 기술을 이전할 수 있는 제도와 홍보가 필요할 것이다.

SUMMARY

To raise enzymatic activity of malt used in processing of traditional food such as rice nectar, we researched about malt processing condition in variety of barley and improvement of malt quality.

The results were summarized as follows:

1. Sprouting rates of glutinous barley, Oel barley, Saegang barley, Duru barley were higher than those of naked barley and two rowed barley. The expansibility of acrospire of glutinous barley and Oel barley was higher than that of naked barley, Saegang barley and Duru barley.
2. α -amylase activity of barley prior to soaking was none, but after soaking the activity of barley increased quickly, and glutinous barley showed the highest value of the activity among Duru barley, Oel barley, two rowed barley and naked barley. Naked barley showed the lowest value.
 β -amylase activity was highest in Duru barley and glutinous barley, naked barley and two rowed barley were followed.
3. α and β -amylase activity of malt were in endosperm of barley mostly, but they were not in acrospire and root of barley.
4. To make green malt, barley was soaked in water at 15°C for 48hr and soaking water was exchanged every 12hr.
5. Maximum α -amylase activity was 6 day-treatment at 15°C, and 4 day-treatment at 18°C and 21°C. Maximum β -amylase activity was 8 day-treatment at 15°C, 6 day-treatment at 18°C, and 4 day-treatment

at 21°C.

6. Pretreatment with 0.1% NaOH of barley showed good effect in α and β -amylase activity, sprouting acrospire and taking root.
7. Gibberellic acid treatment in soaking barley showed higher activity of α and β -amylase than that of control, and abscisic acid treatment showed lower activity of α -amylase than that of control, but β -amylase activity was the same as control.
8. Ozone treatment in soaking barley showed higher activity of α and β -amylase than that of control, and suppressed the growth of mold.
9. Drying of green malt was effective in the temperature below 55°C.
10. Precipitate of crude enzyme solution of green malt with 75% acetone contained 70% of α -amylase and 50% of β -amylase compared with the activity of control.

CONTENTS

I. Introduction	8
II. Material and Method	
1. Material	11
2. Method	
1) α , β -amylase activity	12
2) Changes of microflora of malt	13
III. Result and Discussion	
1. Enzymic activity of malt in variety of barley	15
2. Malt processing condition	22
3. Effect of ozone, growth substance on enzymic activity of malt.	28
4. Drying condition of malt	33
5. Preparation of crude enzyme	34
6. Practical production of malt	35
IV. Summary	37
V. References	39

목 차

I. 서론	8
II. 실험재료 및 방법	
1. 공시재료	11
2. 실험방법	12
III. 결과 및 고찰	
1. 품종별 맥아제조	15
2. 맥아 제조조건	22
3. 맥아제조에 미치는 알카리, 생장조절제, 오존의 영향	28
4. 맥아 건조조건	33
5. 효소의 제재화	34
6. 맥아 대량생산 실증 실험	35
IV. 요약	37
V. 참고문헌	39

I. 서론

麥芽는 大麥을 침지하여 적당한 온도, 습도를 유지하면서 발아하여 얻어지는 것으로서 amylase의 주요한 급원이며 물엿, 식혜, 맥주, whisky, 장류의 제조와 소화제로서 오래 전부터 널리 사용되어 오고 있다. 전통식품인 엿, 식혜, 장류 등을 제조할 때 맥아 기원의 효소로 제조하면 맛, 향기 등이 우수할 뿐 아니라 가정에서도 손쉽게 식품 제조에 이용할 수 있어 맥아의 수요가 날로 증가하고 있다. 특히 전통음료인 식혜의 시장규모는 ^(1,2)1993년 65억원 이던 것이 1995년 2000억원에 이를 것이라는 전망이고 47개의 식혜 가공공장이 있어 식혜원료인 맥아의 수요는 급증하고 있으며 양질의 가공 식품으로 제조하기 위해서는 고품질의 맥아가 요구되고 있다.

맥아는 주류제조용과 당류제조용으로 구분되며 주류용은 二條大麥을 이용하여 발아 후 풋냄새를 제거하기 위하여 焙焦 처리하여 제조하며 당류제조용은 六條大麥을 원료로 하여 발아시켜 건조, 분쇄하여 추출, 이용하는 것이 일반적이다.

국내의 맥주공장에서 주로 사용하는 주류용 맥아는 맥주 제조공정에서 주요한 공정으로서 대량 생산하여 이용하고 있으나 시판을 하고 있지 않는 실정이며 당류제조용 맥아는 농가 또는 소규모로 생산되어 판매되고 있으며 주로 구전에 의한 재래 방법으로 제조하고 있는 실정이므로 수량이 떨어지고 품질이 낮은 맥아가 이용되고 있다.

근래 농민 단체와 농가 등에서 비교적 시설, 설비등이 적게 들고 고도의 기술을 필요로 하지 않는 맥아를 제조하여 판매함으로써 수익을 올리려는 시도를 하고 있으나 재래방법에 의존하고 있어 기술적으로 어려움을 겪고 있다. 또한 보리는 쌀 다음가는 주식으로 식용하여 왔으나 식생활이 변화됨에 따라 그 소비량이 격감되는 추세에 있다. 이러한 시점에서 보리의 이용성과 기호성 증진의 방편으로 맥아 제조의 시도는 식량 자원의 활용을 위해서도 필요한

것이라 하겠다.

보리는 전분이 65%, 단백질이 약 10%, 지방이 2%, 섬유질이 2.5%, β -glucan 이 6.5%로 되어 있다.⁽³⁾ 이와 같은 보리를 발아시켜 효소원으로 식품가공에 이용하고 있는 것이다. 보리를 발아시키면 배유분의 저장전분이 분해되어 양적인 감소가 일어나지만 발아과정중 α -amylase, protease, β -glucanase가 합성되는 것으로 알려지고 있다.⁽⁴⁾

보리발아 과정중 생성되는 α -amylase는 전분의 α -1,4 결합을 무작위로 절단하는 액화효소로서 가공 식품의 제조에 있어 당화 공정에 매우 주요한 역할을 하고 있는 효소이다. α -amylase는 원료보리에서는 검출되지 않으나 발아 과정 중에 합성되며^(5,6,7) α -amylase의 합성에 관여하는 미지의 물질은 Gibberellic acid라고 하였다.^(8,9)

Reid⁽¹⁰⁾, 김^(11,12) 등은 종자 발아시 적색광을 조사하면 Gibberellic acid 합성이 유도되며 RNA량이 증대되어 α -amylase 합성이 증가된다고 하였다. α -amylase의 활성화에 미치는 적색광 처리조건은 光度 100Lux, 조사시간 1일, 1회 3시간 처리하는 것이 효과적이라고 하였으며 발아 3일에 급격한 변화를 나타내며 발아 5일에 효소활성이 가장 높았다고 하였다.

β -amylase는 전분을 가수분해하여 maltose로 변화시키는 효소로서 Meyer 등⁽¹²⁾이 결정으로 분리한 이래 많은 연구를 수행하여 왔다.^(14,15)

Hejgaard등^(16,17)은 원료 보리중의 β -amylase는 유리형과 결합형의 두 종류로 존재하며 발아과정 중에 결합형의 β -amylase는 cysteine과 같은 환원제나 단백질 분해효소 작용에 의하여 효소가 활성화되는 것으로 알려져 있다. 또한 Row등⁽¹⁸⁾은 보리의 β -amylase활성이 ascorbic acid에 의하여 저해된다고 하였다.

β -glucanase는 보리중에 존재하는 glucan을 분해하여 glucose로 변화시키는 효소이다.

맥주양조에 있어 β -glucan은 발효액의 점도를 높게 하고 여과 공정을 어렵

게 하거나 혼탁의 원인이 되기 때문에 glucan 의 분해를 필요로 하는 것이다.⁽¹⁹⁾ 식혜제조에 있어서는 β -glucan은 제품에 기능성을 가지고 있기 때문에 유익한 것이라 할 수 있겠다.

맥아 제조시에 보리 내부성분을 효율적으로 이용하기 위하여 발아를 억제하고 발아 과정중 拔根을 억제하는 방법으로 Gibberellic acid 처리방법과 ammonia solution을 처리하는 방법이 시도되고 있으며⁽²⁰⁾ 발아, 발근 목적으로 무발아 맥아 제조시험을 행하기도 하였다.⁽²¹⁾ 김 등⁽²²⁾은 보리에 저선량의 γ 선을 조사하여 맥아를 만들어 효소의 활성을 측정한 결과 맥아 역가에 현저한 증대 효과를 나타내었다고 보고하였다.

이 등⁽²³⁾은 맥주보리를 이용하여 맥아 품질 검정 체계 확립을 목적으로 맥아 제조조건, 옻기름 생력가공방법, 보리 품종별 효소역가와 수율에 대하여 보고하였으며 이 밖에 보리전분의 이화학적 특성⁽²⁴⁾, 보리 발아과정중 지방질의 변화⁽²⁵⁾에 대한 연구 등을 볼 수 있다.

본 실험에서는 맥아 제조조건을 설정하여 생산에 적용함으로써 품질이 좋은 맥아를 생산하여 양질의 가공식품 원료로 이용하고 보리의 부가가치를 높여 농민의 소득증대와 식생활 향상에 기여하고자 본 연구를 수행하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료

맥아 제조용 보리는 1994년산 보리를 공시재료로 하였으며 Gibberellic acid, Abscisic acid 는 Sigma제, ozone 발생기는 Nikko제를 사용하였다.

2. 실험 방법

가. 발아세와 발아율⁽²⁶⁾

물에 적신 여지 3장을 9 cm petri dish 에 깔고 그 위에 보리 100 알갱이를 고랑이 밑으로 가도록 배열하여 15℃의 항온항습기에 발아시켰다. 3일 후 싹이 난 보리 알갱이의 수를 발아세로 하고, 5일 후 싹이 난 보리 알갱이의 수를 발아율로 하였다.

나. 맥아 제조 방법

보리에 5배량의 15℃ 지하수를 가하여 침지하면서 12 시간마다 환수하고 24~72시간 동안 침지한 후 보리를 건져 내어 물기가 빠지게 한 후 밑 부분에 구멍이 있는 발아상에 3~7cm 두께로 담아서 15~21℃, 대기습도~95%의 항온항습기에서 5~7일동안 발아시켰다. 발아 기간 중에 맥아가 건조하지 않도록 간헐적으로 수도수를 뿌려 주었다. 발아상에서 꺼낸 맥아를 45~70℃의 건조기에서 일정수분이 되도록 건조시켰다.

한편 보리에 생장조절제, NaOH 용액, 오존 등을 처리할 때에는 침지 중에 실시하였다.

다. 엽아 신장도와 중량비율

엽아 신장도는 보리 100 알갱이의 발아된 싹의 길이를 mm 단위로 측정해서 평균을 구하였다.

중량비율은 보리 100 알갱이의 발아된 싹과 배유, 뿌리를 분리하고 생체 무게를 측정해서 각각의 비율과 그것의 평균을 구하였다.

라. 효소 활성 측정

(1) 조효소액 조제

싹과 뿌리를 제거한 맥아 1g에 0.2M acetate buffer(pH 4.8) 20ml를 가하고 균질기로 15000rpm에서 5분간 파쇄하고, 3000rpm에서 10분간 원심분리한 후 상정액을 조효소액으로 하였다.

(2) α -amylase⁽²⁷⁾

2% 가용성 전분용액(0.2M acetate buffer, pH 4.8에 1mM의 p-chloromercuri benzoic acid 함유^(28,12)) 1ml를 가하여 30℃에서 5분간 가온한 후 조효소액 1 ml를 가하고, 항온수조에서 30℃, 30분간 반응시켰다. 반응액 0.5ml를 시험관에 취하고 0.5M acetic acid 10ml를 가하여 1/300N 요오드화액 1ml와 증류수 5ml를 넣고, 620nm에서 흡광도를 측정하고 가용성 전분의 표준곡선을 작성하여 전분의 mg/ml 농도를 구하였다.

100℃에서 10분간 가열하여 불활성화 시킨 조효소액 1ml를 위와 같은 방법으로 공시험하였다.

효소단위는 보리 1g이 30℃에서 1분간에 분해한 가용성 전분 mg수로 표시하였다.

$$\alpha\text{-amylase} = \frac{\text{분해된 가용성 전분(mg)}}{(\text{반응시간(분)} \times \text{시료무게(g)}) \times \text{희석배수}}$$

(3) β -amylase

1% 가용성 전분용액(0.2M acetate buffer, pH4.8) 1ml를 시험관에 취하고 항온수조에서 30℃로 예열한 후 조효소액 1ml 를 가하여 30℃, 30분간 반응시키

고 반응액 중 maltose량을 Dinitrosalicylic acid법⁽²⁹⁾으로 측정하였다.

효소 반응액 0.5ml에 Dinitrosalicylic acid 용액 5ml를 혼합하고 100℃, 10분간 가열한 후 급히 냉각하여 570nm에서 흡광도를 측정하여 maltose를 정량하였다.

효소 단위는 맥아 1g이 30℃, 1분간에 1mg의 maltose를 유리하였을 때 1단위로 하였다.

100℃에서 10분간 가열하여 효소 활성을 불활성시킨 조효소액 1ml를 위와 같은 방법으로 공시험하였다.

$$\beta\text{-amylase} = \text{생성된 maltose(mg)} / (\text{반응시간(분)} \times \text{시료무게(g)}) \times \text{희석배수}$$

마. 곰팡이수 변화

살균한 Potato dextrose agar 배지를 petri dish에 20ml씩 분주하여 굳힌 후 맥아 시료를 생리식염수에 현탁시켜 희석하고 그 희석액 0.1ml를 도말하여 30℃에서 72시간 배양한 후 집락을 계수하여 곰팡이수로 하였다.

바. 효소의 제재화

보리를 48시간 동안 침지하고 21℃에서 6일간 발아시켜 얻어진 맥아에 10배의 0.2 M acetate buffer(pH 4.8)를 가하고, 파쇄한 후 효소를 추출하여 여과하고 6000rpm, 30분간 원심분리하였다. 원심분리한 상징액에 미리 -30℃로 냉각한 acetone을 50%, 75%, 87.5%, 90%의 농도로 1시간동안 단백질을 침전시켜 8000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상징액은 따라버리고 가라앉은 침전물을 모아 acetone을 다 날려 버리고 건조시켰다. 건조된 침전물에 0.2M acetate buffer 20ml를 넣어서 녹이고 α -amylase, β -amylase의 역가와 단백질 함량을 측정하였다.

(1) 단백질 함량측정⁽³⁰⁾

효소 추출액 시료 1ml와 Lowry(A+B+C)혼합 시약 1ml를 완전히 섞은 후 실온에서 15분간 방치하고, phenol시약 3ml를 넣고 즉시 혼합한 후 실온에서 45분간 방치하여 540nm에서 흡광도를 측정하여 단백질을 정량하였다.

이 때 표준단백질은 bovine serum albumin 을 이용하였다.

Lowry A액은 0.5N NaOH 1ℓ에 100g의 Na₂CO₃를 용해한 것 15ml, B액은 100ml의 증류수에 1g의 CuSO₄·5H₂O를 용해한 것 0.75ml, C액은 100ml의 증류수에 2g의 potassium tartrate를 용해한 것 0.75ml를 사용하였다.

phenol 시약은 2N phenol reagent 5ml과 증류수 50ml를 혼합하여 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 품종별 맥아 제조

(1) 품종별 보리의 발아율과 신장도

정선된 보리를 직경 9cm petri dish에 물에 흠뻑 적신 여지 3장을 깔고 15℃로 조정된 발아상에 치상하였을 때 발아율, 발아세와 발아일수에 따른 싹의 신장도는 표 1, 2와 같다.

표 1. 품종별 보리의 발아세와 발아율

보리 품종	발아세(%)	발아율(%)
올보리	7	97
쌀보리	3	81
새강보리	3	95
두루보리	3	96
찰보리	4	100
맥주보리	0	76
밀	75	81

*발아세: 보리 100알갱이 중 치상 3일 째에 발아된 보리의 수

*발아율: 보리 100알갱이 중 치상 5일째에 발아된 보리의 수

표 2. 발아일수에 따른 품종별 보리의 엽아 신장도 (단위: mm)

보리 품종	2일	4일	6일	8일
올보리	0	7.1	29.5	45.7
쌀보리	0	5.5	15.9	25.8
새강보리	0	4.7	18.5	27.2
두루보리	0	4.3	21.8	29.4
찰보리	0	6.4	26.5	46.3
맥주보리	0	0	24.5	35.4
밀	2.4	7.3	26.1	48.0

공시 보리와 밀 품종 중 발아세는 밀이 제일 높고 맥주보리가 낮았으며, 발아율은 찰보리가 가장 높고 맥주보리가 가장 낮았다.

엽아는 밀이 제일 먼저 자라났으며 쌀보리가 늦게 자라났다. 발아 8일째 밀, 올보리, 찰보리가 45.7~48.0mm이었고, 쌀보리가 25.8mm로서 가장 적었으며 품종간에 엽아 신장도의 보이는 차이가 심하였다.

공시 보리를 15℃에서 처리할 때 발아일수에 따른 발아 상태를 보면 사진 1과 같다.

(2) 품종별 맥아의 효소 역가

공시보리를 petri dish에 넣어 15℃에서 발아시키면서 발아기간에 따른 품종별 보리의 효소 역가를 측정한 결과는 그림 1, 2와 같다.

공시 품종 보리의 α -amylase는 보리자체에는 거의 존재하지 않았으나 발아가 진행됨에 따라 발아 8일째에 최고치에 달하였으며 찰보리가 가장 높았고 두루보리, 올보리 순이었으며 맥주보리가 가장 낮았다.

또한 공시 보리의 β -amylase 역가는 발아 4일째에 급격하게 높아졌고 그 후는 약간 증가하여 발아 8일째에 최고치에 달하였고 두루보리>쌀보리>찰보리순으로 높았고 맥주보리가 가장 낮았다. 발아 8일 이후의 효소역가는 감소하는 경향이였다. 따라서 상업적으로 맥아생산을 할 때에는 15℃에서 발아 6일이 효과적일 것으로 생각된다.

이 등⁽²³⁾은 공시 보리 품종을 17~23℃에서 발아시켰을 때 효소역가는 두루보리, 새강보리가 가장 높아 본 실험의 결과와 비슷한 경향을 나타내었고 찰보리에 있어서 서로 다른 결과를 나타내었다.

Macgregor⁽³¹⁾ 등은 2조, 6조대맥 품종을 18℃에 발아시켜 α -amylase을 측정한 결과 발아 30시간 쯤에는 효소역가는 거의 나타나지 않았고 발아 48~96시간 사이에 효소 합성이 주로 이루어져 발아 100시간 쯤에 최고치에 달하였으며 6조 대맥이 2조 대맥보다 효소 활성이 높아 본 실험의 결과와 비슷한 경향

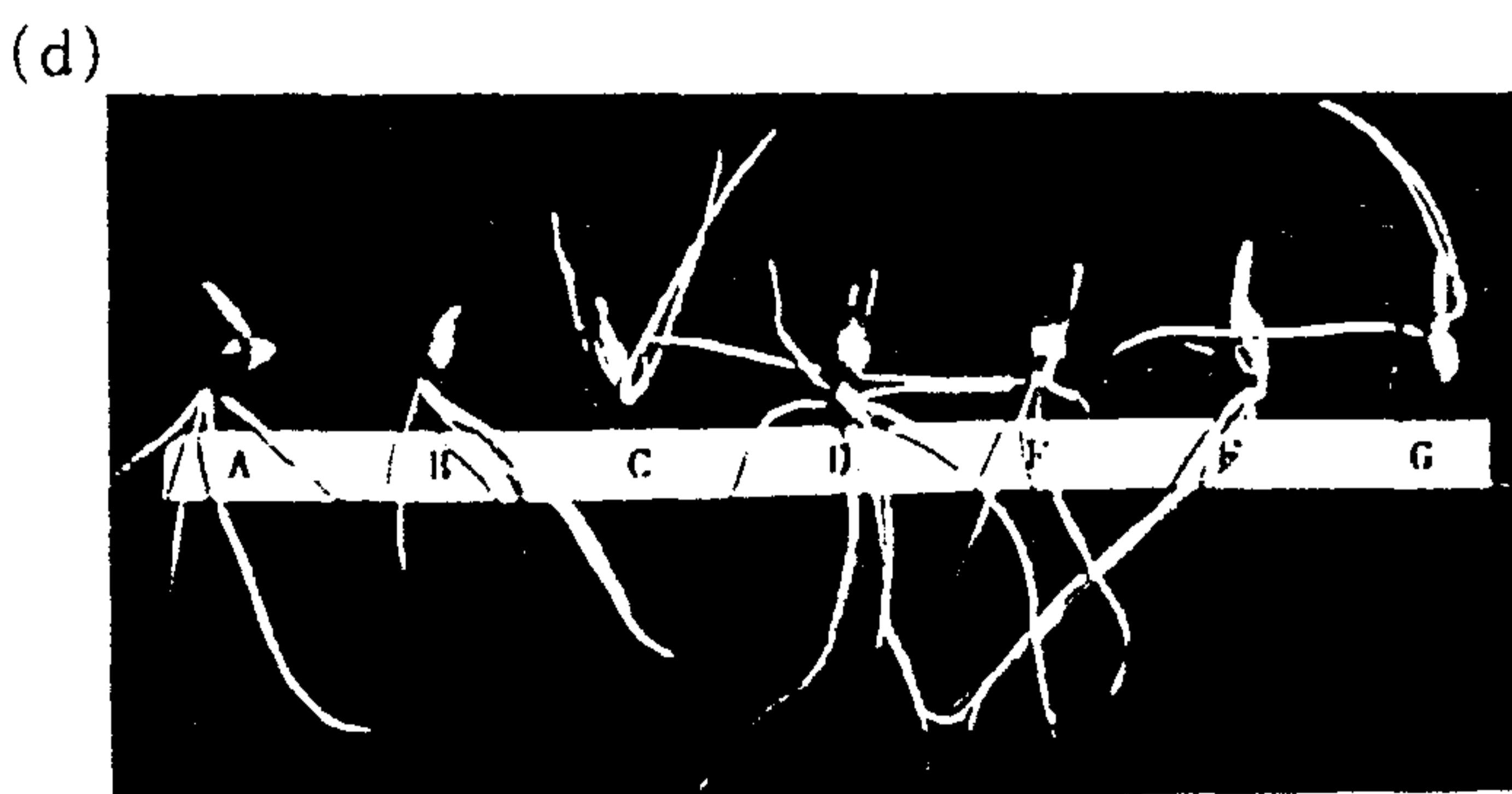
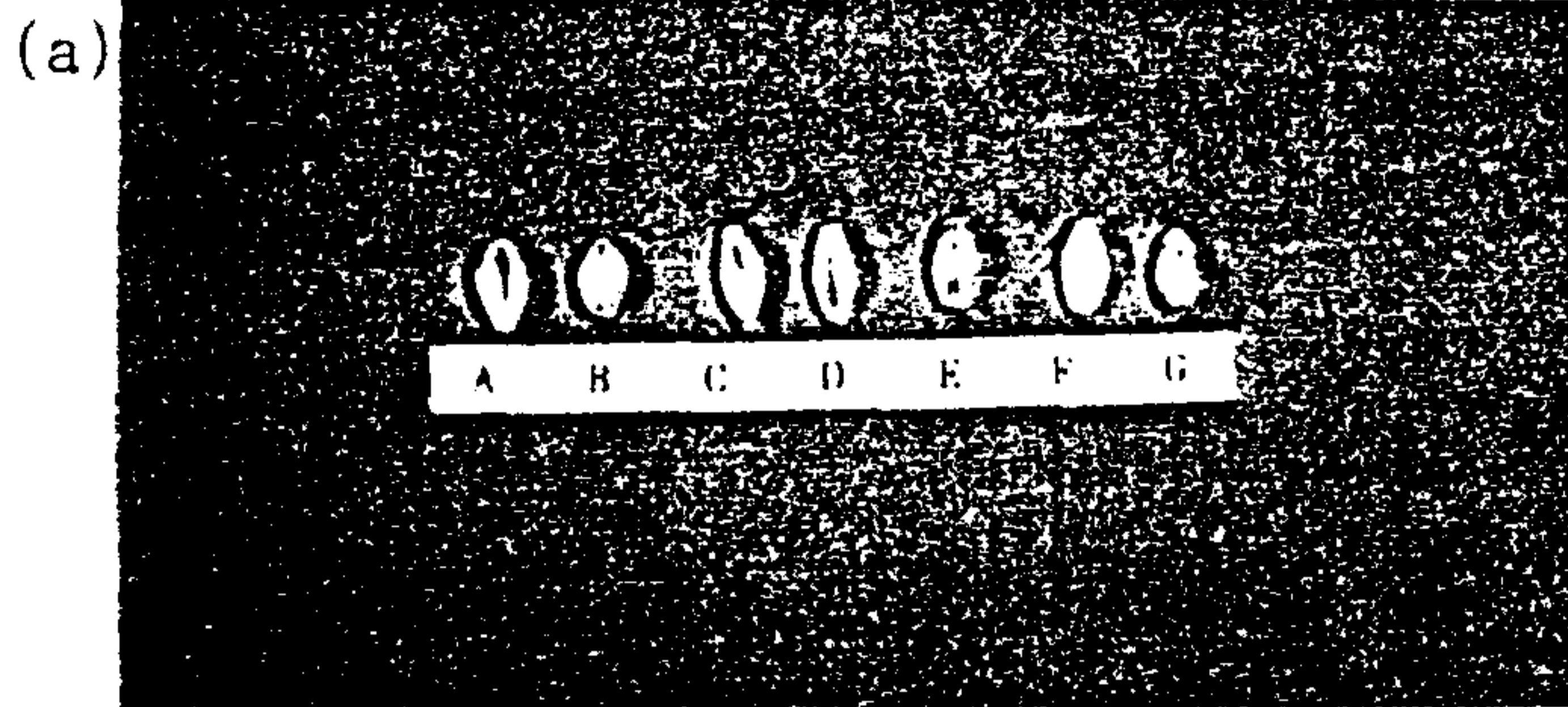


사진1. 발아 일수에 따른
 보리 품종별 발아 상태
 A. 울보리 B. 쌀보리 C. 새강
 보리 D. 두루보리 E. 찰보리
 F. 맥주보리 G. 밀
 (a)침지 48hr (b)발아 2일
 (c)발아 4일 (d)발아 5일

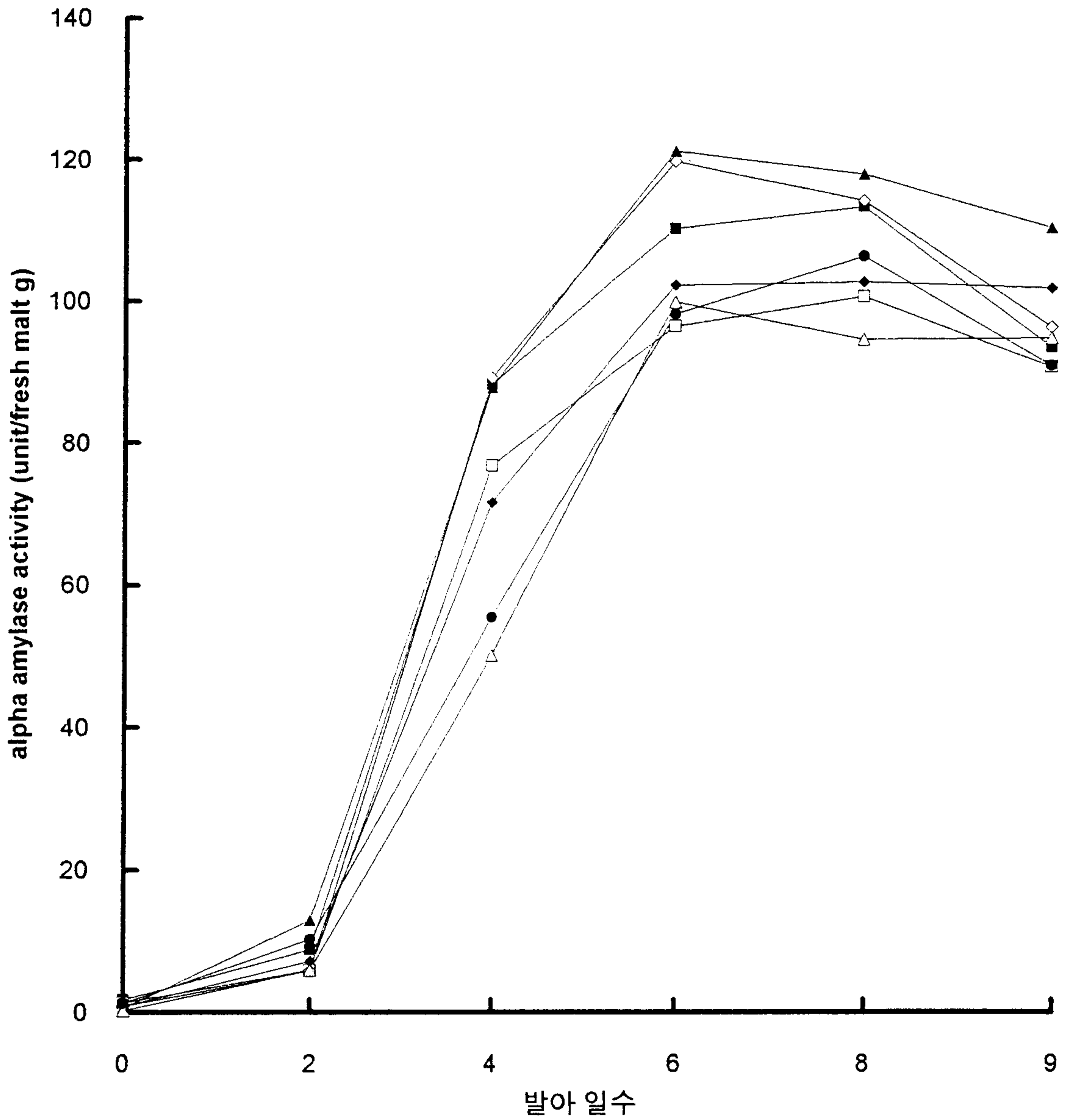


그림 1. 발아 일수에 따른 품종별 보리의 α -amylase역가

■ 울보리 □ 쌀보리 ◆ 새강보리 ◇ 두루보리
 ▲ 찰보리 △ 맥주보리 ● 밀

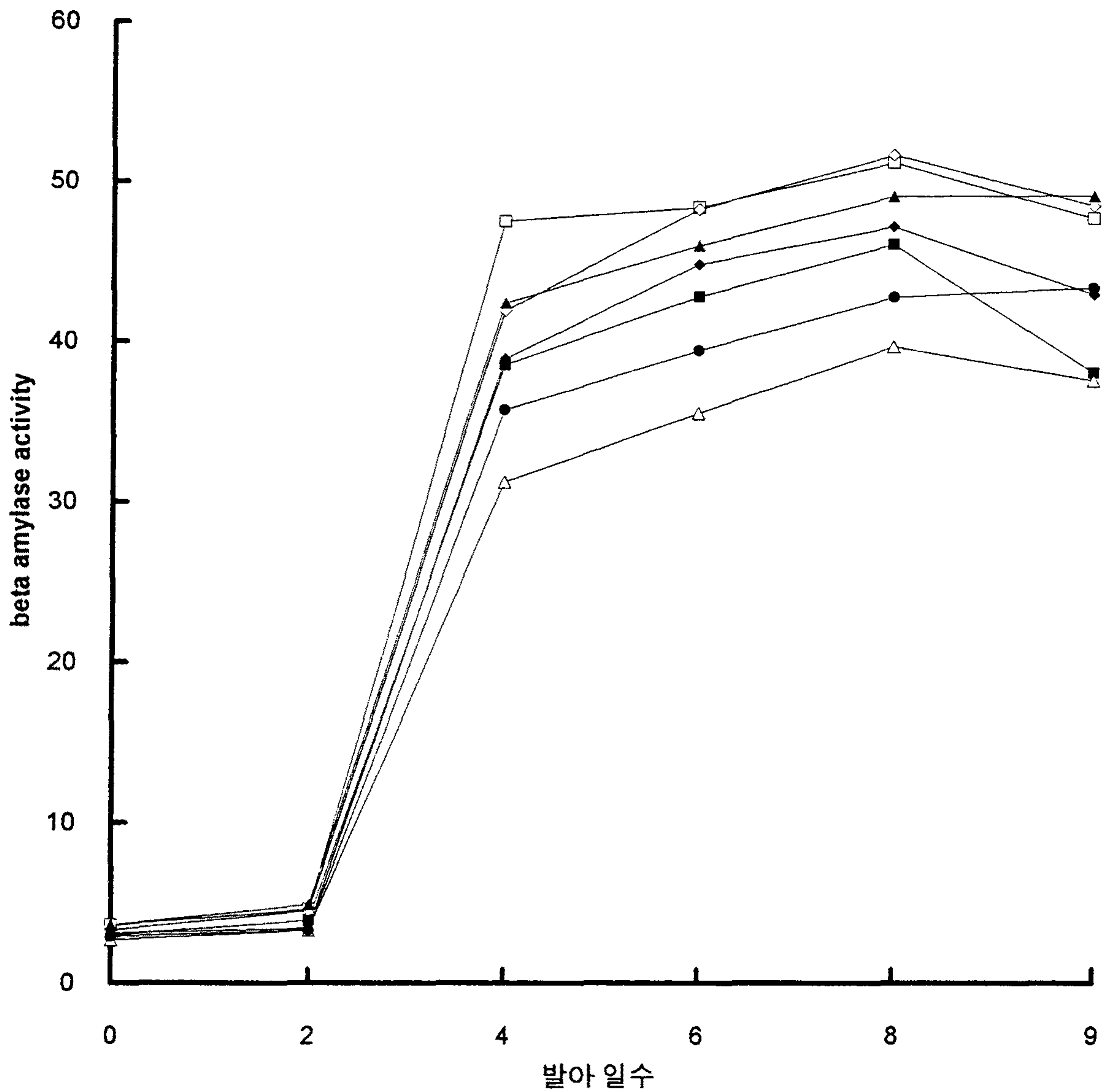


그림 2. 발아 일수에 따른 품종별 보리의 β -amylase역가

—■— 울보리 —□— 쌀보리 —◆— 새강보리 —◇— 두루보리
 —▲— 찰보리 —△— 맥주보리 —●— 밀

을 나타내었다.

(3) 맥아 부위별 중량비율 및 효소 역가

울보리, 찰보리 품종을 15℃에서 발아 시켰을 때 발아기간에 따른 부위별 생체 중량 비율 및 효소 역가는 표 3, 4, 5와 같다.

표 3. 발아 일수에 따른 보리 부위별 α -amylase 역가 비율 (%)

보리 품종, 부위	4일	5일	6일
울 보 리	100	100	100
뿌리	5.2	0.1	0.1
싹	0.6	0.1	0
배유	94.2	99.8	99.9
찰 보 리	100	100	100
뿌리	2.6	2.2	0.4
싹	14.7	1.5	0.6
배유	82.7	96.2	99

표 4. 발아 일수에 따른 보리 부위별 β -amylase의 역가 비율 (%)

보리 품종, 부위	4일	5일	6일
울 보 리	100	100	100
뿌리	0.8	0.4	1.7
싹	5.5	1.0	0
배유	93.7	98.7	98.3
찰 보 리	100	100	100
뿌리	0.4	0.2	0.5
싹	1.27	0.2	1.1
배유	98.4	99.6	98.4

표 5. 발아 일수에 따른 부위별 증량 비율

(%)

보리 품종, 부위	4일	5일	6일
올 보 리	100	100	100
뿌리	23.6	33.3	31.3
싹	11.2	19.6	29.6
몸체	65.2	47.1	39.1
찰 보 리	100	100	100
뿌리	24.6	32.7	31.4
싹	13.3	22.2	30.0
몸체	67.7	45.1	38.6

발아 기간에 따른 올보리, 찰보리 품종의 4일째 배유부위 생체증량은 65.2~67.7%로서 품종간에 별차이가 없었으며 발아가 진행됨에 따라 점차 감소하여 6일째에는 38.6~39.1%에 이르렀다. 또한 올보리 배유부분의 α -amylase의 역가는 발아 4일째에 94.2%, 찰보리는 82.7%로서 올보리가 높았으나 발아가 진행됨에 따라 α -amylase역가는 배유부분에 존재하였다. 발아 4일째에 올보리, 찰보리의 β -amylase 역가는 배유부분에 93.7~98.4%로서 α -amylase보다 높았으며 발아가 진행됨에 따라 β -amylase의 역가는 배유부분에 존재하였으므로 맥아 제품 제조시 뿌리, 싹 부위는 제거하여야 한다.

이 등⁽²³⁾은 공시보리 품종을 17℃, 20℃, 23℃에서 발아시켜 뿌리를 제거하지 않고 엿기름 수율을 측정된 결과 17℃ 발아구에서는 86.4~92.4%, 23℃ 발아구에서는 80.5~88.5%이었으며 뿌리를 제거하였을 때 17℃ 발아구에서는 77.1~85.5%, 23℃ 발아구에서는 67.5~79.1%로서 품종간에 차이가 컸으며 온도가 높아짐에 따라 엿기름의 수율은 낮았으나 본 실험에서는 생체중으로 측정함으로써 두 결과를 비교하기에는 곤란하였다.

일반적으로 맥아 제조시에는 뿌리를 제거하여 사용하여 왔으나 이 등⁽³²⁾은 맥아근에 핵산 분해효소인 phosphodiesterase가 다량 존재하는 것으로 보고하여 고추장 제조에 있어서 맥아를 이용할 때에는 맥아근을 제거할 필요가 없

을 것으로 생각되며 용도에 따른 맥아 처리 방법을 달리하여야 할 것이다.

2. 맥아 제조조건

(1) 침지 시간

울보리를 수도수로 12시간마다 환수하면서 24~72시간 동안 침지하였을 때 발아 일수에 따른 α , β -amylase 역가 변화는 그림 3, 4와 같다.

48시간 침지한 보리의 α -amylase는 발아 4일, β -amylase는 발아 6일째에 최고치에 달하였으며 72시간 침지하였을 때에는 α -amylase 역가는 오히려 저하하였으므로 48시간 정도 침지하는 것이 효과적이었다.

한편 Macgregor 등⁽³³⁾은 48시간 침지한 보리와 침지하지 않고 수분을 충분히 공급하면서 보리를 발아시켰을 때 침지하지 않은 맥아의 α -amylase 역가는 48시간 침지한 보리보다 훨씬 빨리 나타났으며 높았다고 보고하였으나 본 실험의 결과와는 침지 조건등이 달라 효소역가를 비교하기에는 곤란하였다.

Narziss 등^(34, 35)은 발아기간을 단축하기 위하여 침지 보리의 수분함량이 43% 이상이 되어야 하며 침지수의 온도는 12°C가 적당하며 침지수의 온도가 높으면 extract의 손실이 일어나기 때문에 주의를 요한다고 하였다.

(2) 발아 온도 및 습도

울보리를 48시간 동안 수도수에 침지하여 온, 습도에 따른 효소역가의 변화를 측정된 결과는 그림 5, 6, 표 6, 7과 같다.

표 6. 발아 습도에 따른 맥아의 α -amylase역가 (unit)

습 도	3일	5일
95%	65.9	84.7
85%	12.3	22
대기습도	9.6	44

*발아 온도: 21°C

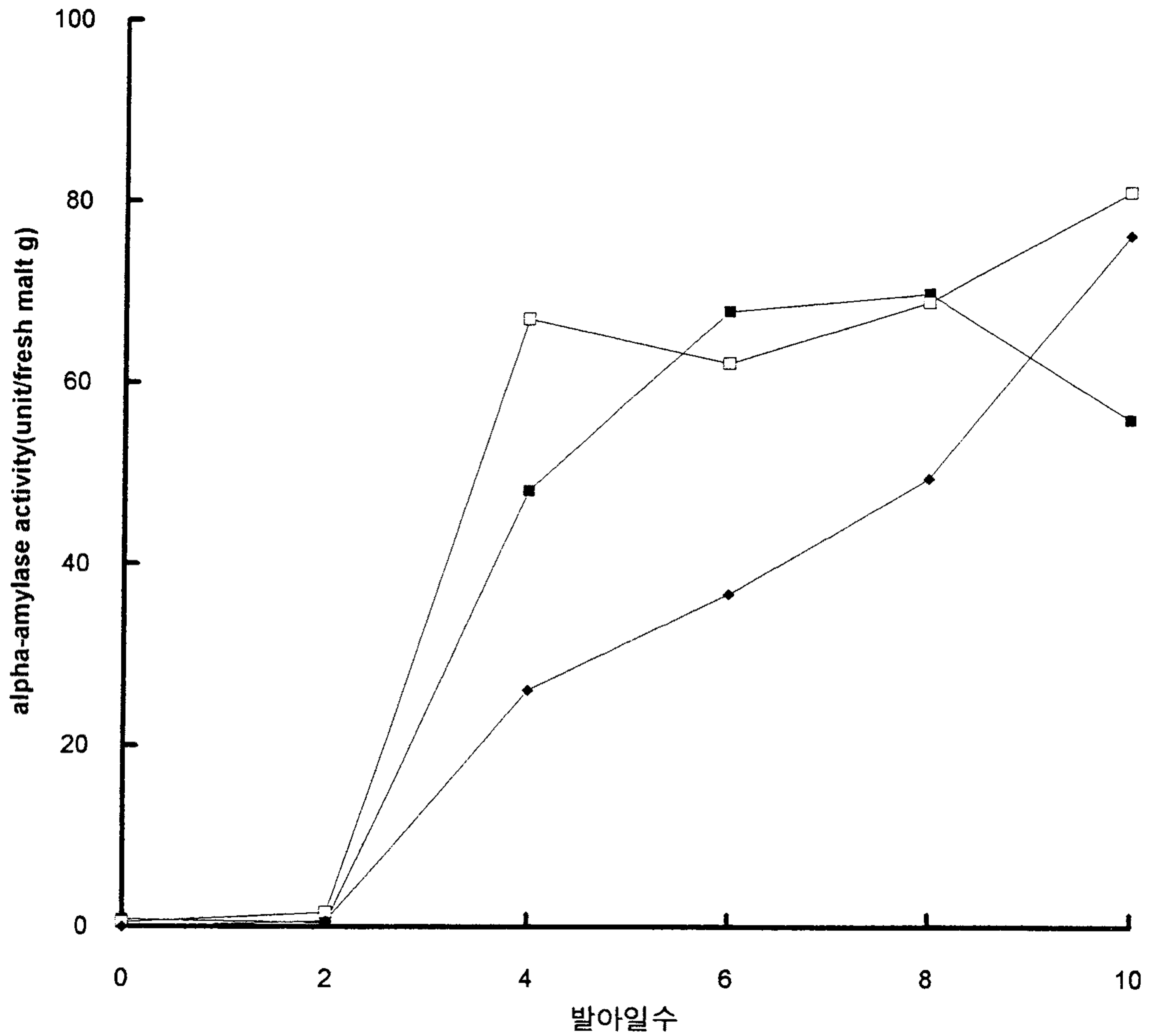


그림 3. 침지 시간에 따른 맥아의 α -amylase역가

—■— 24hr —□— 48hr —◆— 72hr

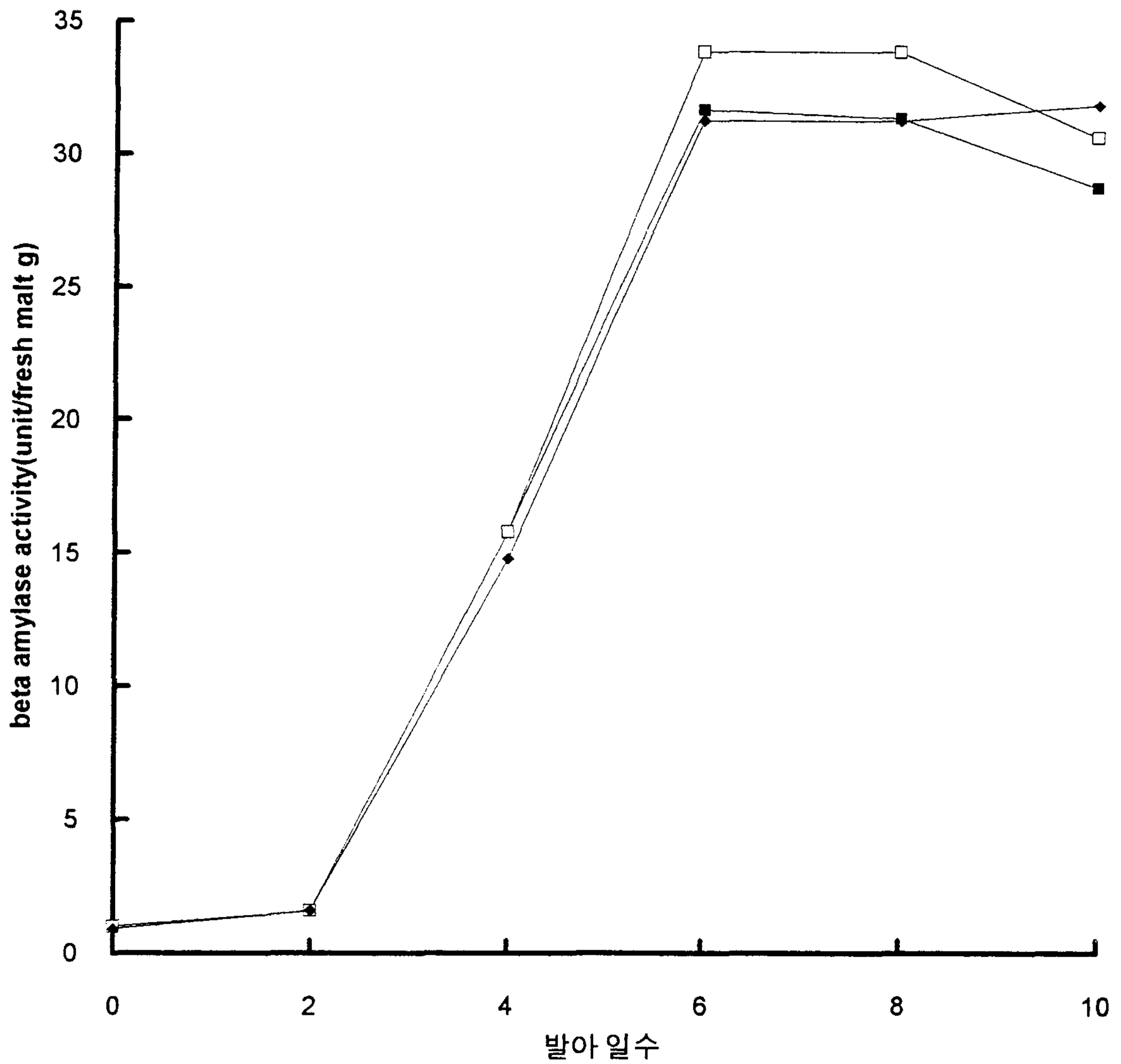


그림 4. 침지 시간에 따른 맥아의 β -amylase역가

—■— 24hr —□— 48hr —◆— 72hr

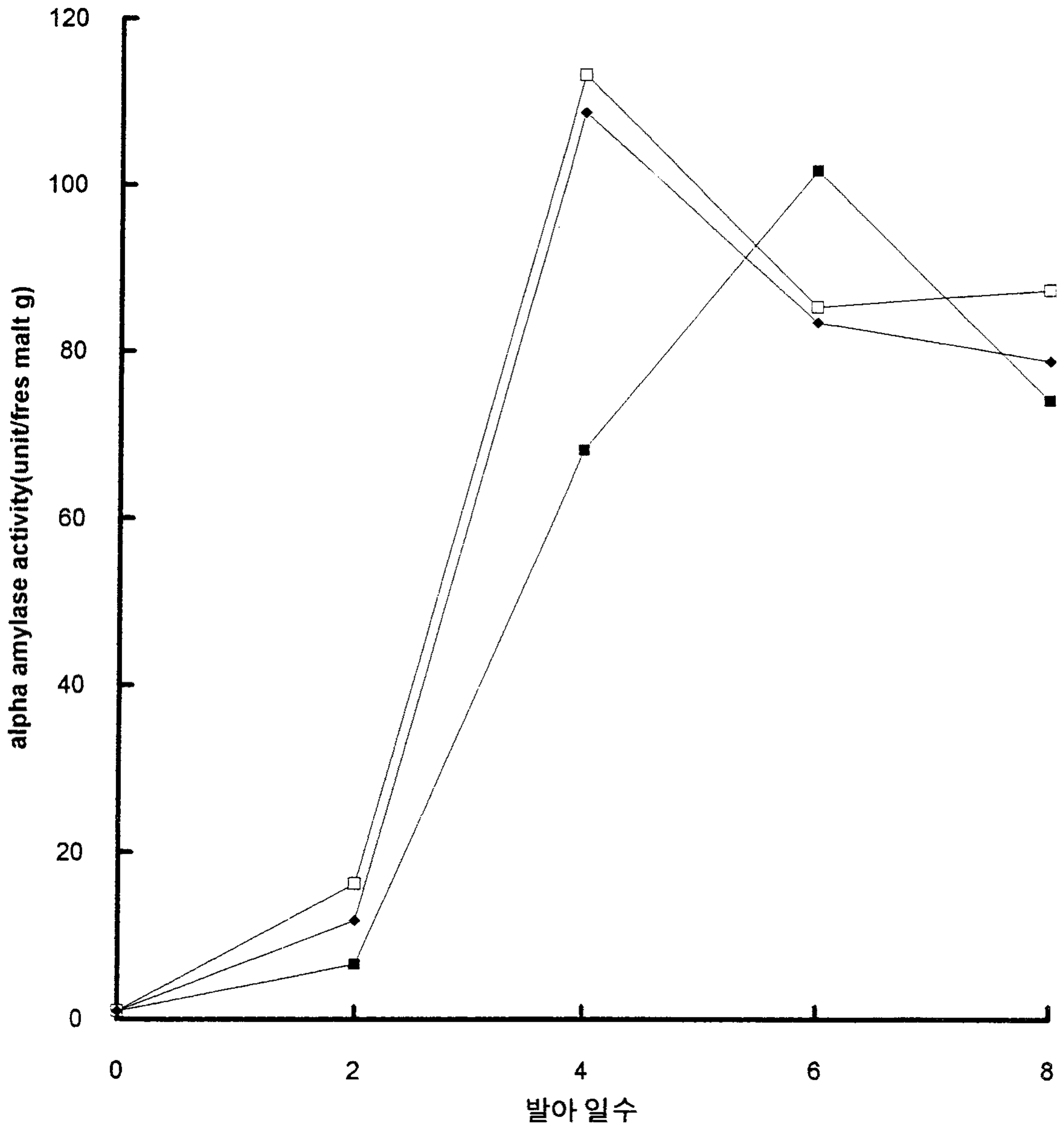


그림 5. 발아 온도에 따른 맥아의 α -amylase역가

—■— 15°C —□— 18°C —◆— 21°C

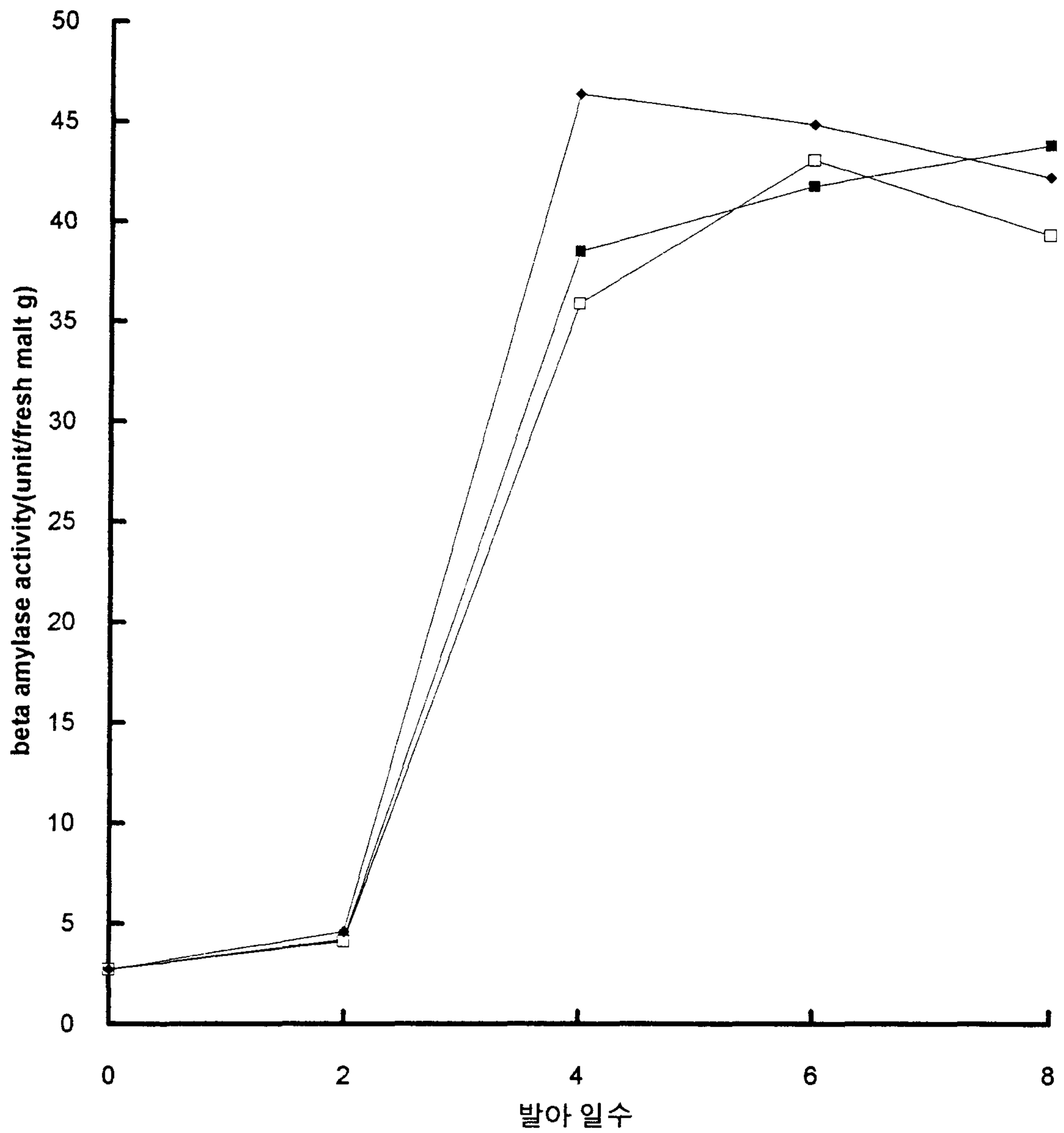


그림 6. 발아 온도에 따른 맥아의 β -amylase역가

—■— 15°C —□— 18°C —◆— 21°C

표 7. 발아 습도에 따른 맥아의 β -amylase역가 (unit)

습 도	3일	5일
95%	14.8	16.1
85%	2.4	19.2
대기 습도	2.4	21.4

*발아 온도: 21℃

발은 15℃에서는 발아 6일, 18℃에서는 4일째에 최고치에 달하였으므로 잡균의 오염 등을 감안할 때 18~21℃의 온도가 바람직할 것으로 생각된다.

또한 발아에 미치는 습도는 95%가 적당하였으나 포화습도 상태에서는 생성된 응축수가 발아상에 떨어져 잡균 오염이 일어나고 효소 역가가 낮아져 고품질의 맥아를 제조하기 어렵기 때문에 습도의 조절은 발아 과정 중 초기 단계에서 1일 1~2회의 가수가 바람직할 것으로 생각된다. 발아 과정 중 온도가 높고 상대습도가 낮으면 발아가 양호하지 못하게 된다.

이 등⁽²³⁾은 올보리 품종을 14~23℃에서 발아시켰을 때 맥아수율은 14℃에서 발아시키는 것이 높았고 온도가 높아짐에 따라 감소하였으며 맥아와 원맥을 기준으로 할 때 효소역가는 20℃에서 발아시키는 것이 가장 효과적이라고 하여 본 실험의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

(3) 발아 두께의 영향

올보리를 48시간 침지하여 밑 부분에 구멍이 있는 발아상에 3, 5, 7cm 두께 별로 담아 21℃에서 발아 시켰을때 맥아의 효소 역가는 표 8, 9와 같다.

표 8. 발아 두께에 따른 맥아의 α -amylase 역가 (unit)

발아 두께	3일	5일
3cm	68.1	89.3
5cm	63.9	72.0
7cm	71.4	58.2

표 9. 발아 두께에 따른 맥아의 β -amylase 역가 (unit)

발아 두께	3일	5일
3cm	15.5	16.3
5cm	15.5	16.2
7cm	15.5	15.5

α -amylase는 3cm 두께로 발아 시켰을 때 발아 5일에 가장 양호하였고 β -amylase는 두께별로 차이가 인정되지 않았으나 7cm이상은 발아 호흡열에 의하여 온도가 상승하여 곰팡이의 오염이 일어날 수 있기 때문에 주의를 요하며 산소와 수분의 공급을 원활하게 해 주기 위하여 발아 초기에는 1일 1~2회 뒤집어서 온도를 떨어 뜨려야 한다.

또한 발아과정 중 뿌리의 생장이 왕성하여 서로 엉키게 되면 열이 발산되지 못하여 온도가 상승하므로 효소역가는 저하하고 차후의 작업을 어렵게 함으로 발아 1~4일사이에는 뿌리가 엉켜 붙지 않도록 12시간 간격으로 뒤집기를 하여야 할 것이다.

맥아 대량 제조시에는 다소 두께를 두텁게 한다하더라도 뒤집기를 자주하면 좁은 공간에서 많은 맥아 제품을 생산 할 수 있을 것이며 면적이 넓은 발아장에서는 뒤집기를 할 때에 경운기 등을 사용하면 생력화에 도움이 될 것으로 생각된다.

3. 효소 역가에 미치는 알카리, 성장조절제, 오존의 영향

(1) NaOH처리와 효소 역가

울보리를 0.05~0.3% NaOH용액에서 48시간 침지한 후 수세하여 21℃에서 발아시킨 맥아의 효소역가는 그림7, 8과 같다.

NaOH 용액 처리로 발아 4일째의 α -amylase는 무처리에 비하여 약간 높았으며 β -amylase도 역시 같은 경향이었으나 NaOH처리로 맥아 제품의 삼미와 색이 제거되기 때문에 맥아를 이용한 가공제품을 만들었을 때 기호도가 높을 것

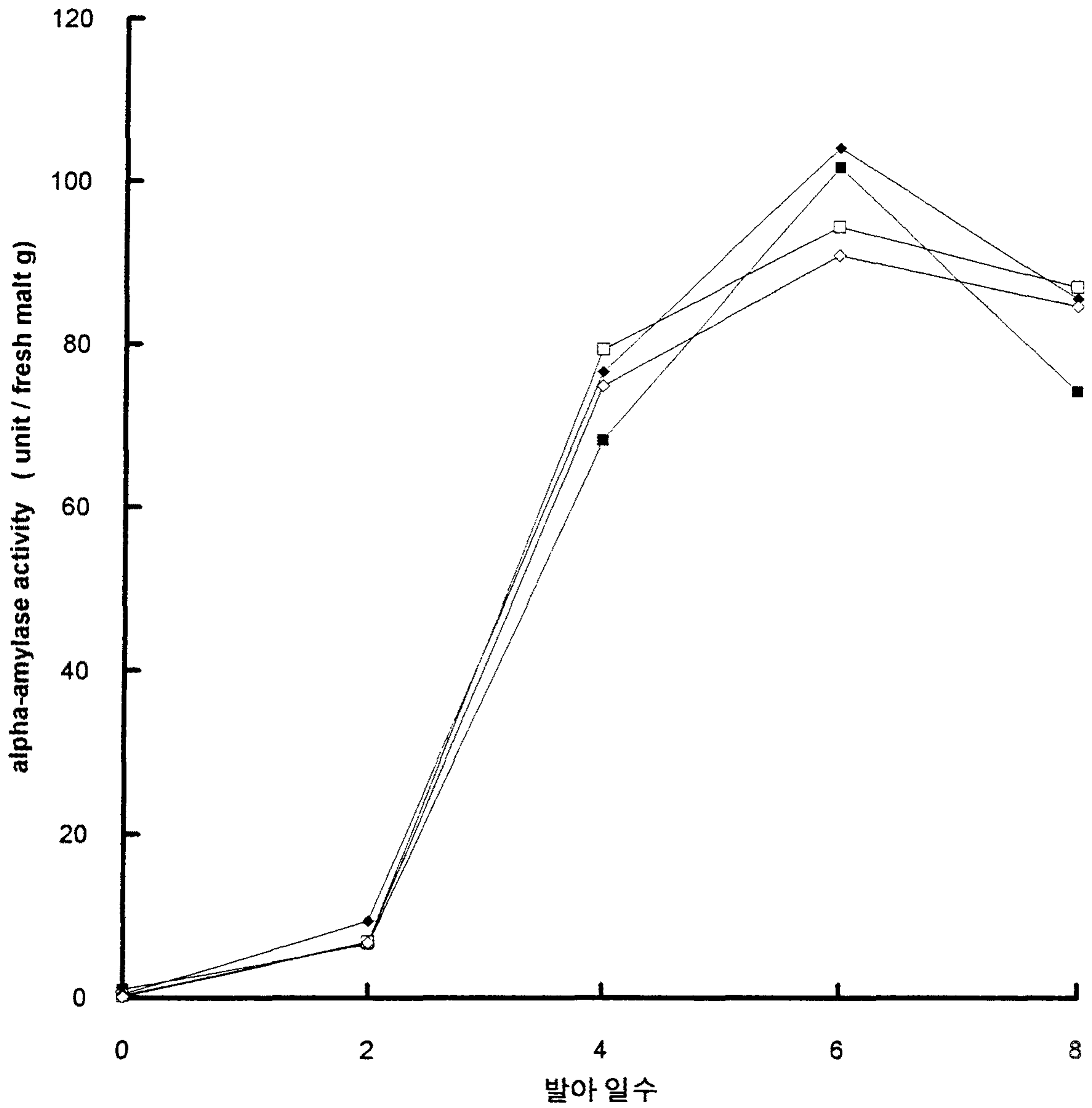


그림 7. 침지 시 NaOH농도에 따른 맥아의 α -amylase역가

—■— 0% —□— 0.05% —◆— 0.10% —◇— 0.30%

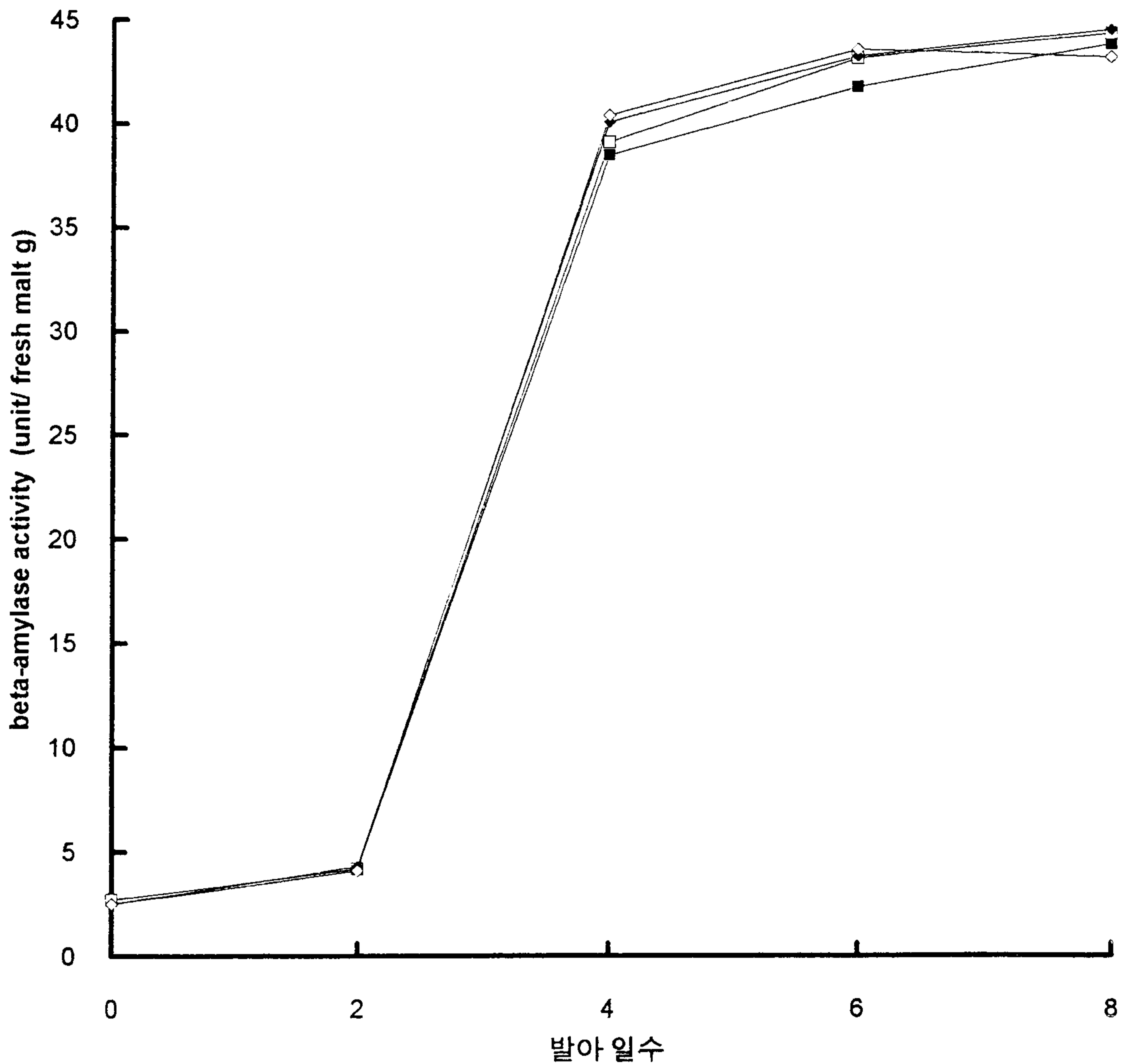


그림 8. 침지 시 NaOH농도에 따른 맥아의 β -amylase역가

—■— 0% —□— 0.05% —◆— 0.10% —◇— 0.30%

으로 사료되며 발아, 발근도 촉진되었다.

그러나 알카리 처리하면 작업공정이 번거롭고 생산비의 추가부담이 발생할 뿐만 아니라 알카리 폐수처리 시설을 갖추어야 하는 등 제반 문제가 발생할 수 있으므로 소규모 공장에서는 알카리처리는 바람직하지 않을 것으로 생각된다.

(2) 생장조절제 처리와 효소 역가

공시재료 침지과정 중 Gibberellic acid, Abscisic acid을 처리하였을 때 효소 역가는 표 10, 11과 같다.

표 10. GA 및 ABA처리에 따른 맥아의 α -amylase 역가 (unit)

생장조절제	0일	2일	4일	6일	8일
control	1.0	6.6	68.2	101.8	74.2
GA $5 \times 10^{-5}M$	0.5	8.2	82.9	111.2	92.7
ABA $5 \times 10^{-5}M$	0.8	4.0	53.5	82.2	49.3

표 11. GA 및 ABA처리에 따른 맥아의 α -amylase 역가 (unit)

생장조절제	0일	2일	4일	6일	8일
control	2.7	4.2	38.5	41.88	43.9
GA $5 \times 10^{-5}M$	2.5	4.3	42.5	43.72	44.5
ABA $5 \times 10^{-5}M$	2.5	4.2	38.7	42.8	46.3

α -amylase의 효소 역가는 GA 처리에 의하여 20%정도 높아졌으나 ABA는 오히려 감소하였다.

β -amylase의 효소 역가는 GA 처리한 것이 무처리에 비하여 약간 증가하였으나 ABA 처리효과는 인정되지 않았다. 생장조절제의 처리방법, 처리 농도에 따른 추가실험이 요구된다.

생장조절제인 Abscisic acid(ABA)와 gibberellin(GA₃)은 종자의 발아와 생육에 중요한 역할을 하는 물질로서 ABA는 종자의 발아와 생육을 억제하지만 GA₃는 촉진하는 것으로 알려져 왔다.⁽³⁶⁾

Li 등⁽³⁶⁾은 Bonanza 보리에 ABA와 GA₃을 처리하여 맥아 품질에 미치는 영향을 검토한 바 GA₃ 처리구에서는 α-amylase와 β-amylase의 활성은 증가되었고 ABA처리구에서는 가용성 단백질, α, β-amylase 역가, 맥아손실을 감소시켰다고 보고하였다. 또한 Palmer 등⁽³⁷⁾은 보리를 침지한 후 gibberelic acid 25ppm 농도로 분무하였을 때 α-amylase 역가는 증가하였고 glucanase는 감소하였다고 보고하였으며 본 실험에서도 10⁻⁵M GA₃의 농도에서 α-amylase역가는 증가하였고 ABA처리 효과는 인정되지 않아 Li 등의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

(3) 오존 처리에 따른 맥아의 효소역가와 곰팡이수

공시 품종 을보리를 0.3ppm의 오존수에 48시간 침지하여 18℃에서 발아시켰을 때 발아기간중 효소역가와 곰팡이수를 측정된 결과는 표 12, 13, 14와 같다.

표 12. 오존 처리에 따른 α-amylase의 역가 (unit)

Ozone	0일	2일	4일	6일	8일	10일
control	0.5	1.5	48.1	62.2	69.9	81.2
0.3 ppm	0.2	1.7	54.9	68.4	100.7	71.4

표 13. 오존 처리에 따른 β-amylase의 역가 (unit)

Ozone	0일	2일	4일	6일	8일	10일
control	0.9	1.6	15.8	31.7	30.4	28.8
0.3 ppm	0.9	1.7	15.1	33.3	30.5	30.0

표 14. 발아 일수별 맥아의 곰팡이 수 변화 (cfu/g)

Ozone	0일	4일	8일	10일
무처리	3×10^4	3×10^5	7×10^7	6×10^8
오존처리	2×10^4	3×10^4	3×10^5	4×10^7

오존은 강력한 산화제로서 살균, 탈취, 탈색, 표백, 유독물질의 분해, 식물의 생장 촉진에 유효한 수단으로 이용되어지고 있다. 오존의 이용기술은 오존 발생기가 개발됨으로서 식품 공업에서 오존을 이용하려고 하는 시도가 많이 이루어지고 있으며 특히 세균, 대장균, 효모, 바이러스의 살균에 유효한 것으로 보고하고 있다.⁽³⁸⁾

內藤⁽³⁹⁾은 콩나물 재배에 0.3~0.5 ppm의 오존수를 처리하면 콩의 胚軸部의 길이가 증가하고 catalase, superoxide dismutase 활성이 증가하는 것으로 보고하였으며 Briggs 등⁽⁴⁰⁾은 콩시보리에 0.75% H₂O₂를 처리하였을 때 경제적으로 malting을 촉진시킬 수 있었다고 하였다. 본 실험에서도 보리 발아에 오존을 처리하면 효소 활성이 증대되었고 곰팡이 억제에 효과적임을 알 수 있었다.

4. 맥아 건조 조건

맥아의 보존성을 증진하기 위해서 침지 보리를 18℃에서 6일간 발아시켜 여러 온도에서 건조하여 일정 수분이 되게 한후 제품의 효소여가를 측정하는 결과는 표 15와 같다.

표 15. 건조 온도에 따른 맥아의 효소 여가 (unit)

건조 온도	α -amylase	β -amylase
45℃	91.9	54.4
55℃	82.4	52.1
70℃	80.0	55.3
일광건조	71.1	54.2

건조온도에 따른 α -amylase역가는 45°C의 열풍으로 건조하였을 때 가장 높았으며 일광 건조한 것이 가장 낮았다. 일광 건조 제품은 건조 시간이 오래 걸려서 건조과정 중 효소의 활성이 떨어지는 것으로 사료된다.

β -amylase역가는 일광 건조, 각 온도 열풍 건조구에서 거의 비슷한 결과를 나타내어 70°C이상의 온도에서는 효소가 불활성화되므로 가급적 60°C 전후의 온도에서 건조하는 것이 바람직할 것이다.

이 등⁽²³⁾의 실험에서는 맥아 효소 역가는 50°C로 건조한 맥아에서 가장 높게 나타났으며 70°C에서 건조하였을 때에는 효소역가가 급격히 감소하였다고 보고하였으며 본실험의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

5. 효소의 제재화

침지 보리를 21°C에서 6일간 발아시켜 얻어진 맥아에 10배의 0.2M acetate buffer(pH 4.8)를 가하고 파쇄한 후 효소를 추출하여 여과하고 6000rpm, 30분간 원심분리하여 얻어진 조효소액에 미리 -30°C로 냉각한 acetone을 가하여 acetone의 농도가 일정하게 한후 1시간 동안 단백질을 침전시켜 원심분리하고 상정액을 제거하였다. 이 효소 침전물에 0.2M acetate buffer를 가하여 얻어진 acetone 분획 단백질양, α -amylase, β -amylase역가를 측정된 결과는 표 16과 같다.

표 16. acetone분획물의 효소 역가 (unit)

acetone 분획	단백질양(mg)	α -amylase역가	β -amylase역가
조효소액	1377.6	61,744	10,880
acetone 50%	245.8	28,445	4,624
75%	681.7	43,710	5,008
87.5%	602.9	32,142	4,624
90%	481.9	24,177	4,544

6. 대량 생산을 위한 실증실험

효소역가가 높고 고품질의 맥아를 제조하고 생력화를 하기 위하여 정선된 올보리 품종 600kg을 시멘트 탱크에 70~80cm 두께로 편 후 비닐 하우스내에서 18~22℃에서 5일간 발아시키면서 발아 1~2일 쯤에는 물을 1~2회 살수하고 뿌리가 엉키는 것을 방지하기 위하여 경운기로 2~3차례 섞어준 후 55℃의 bulk건조기에서 건조하여 제근한 후 분쇄하여 제품으로 하였으며 제품의 수율은 78~80%이었고 그 과정을 보면 사진 2와 같다.

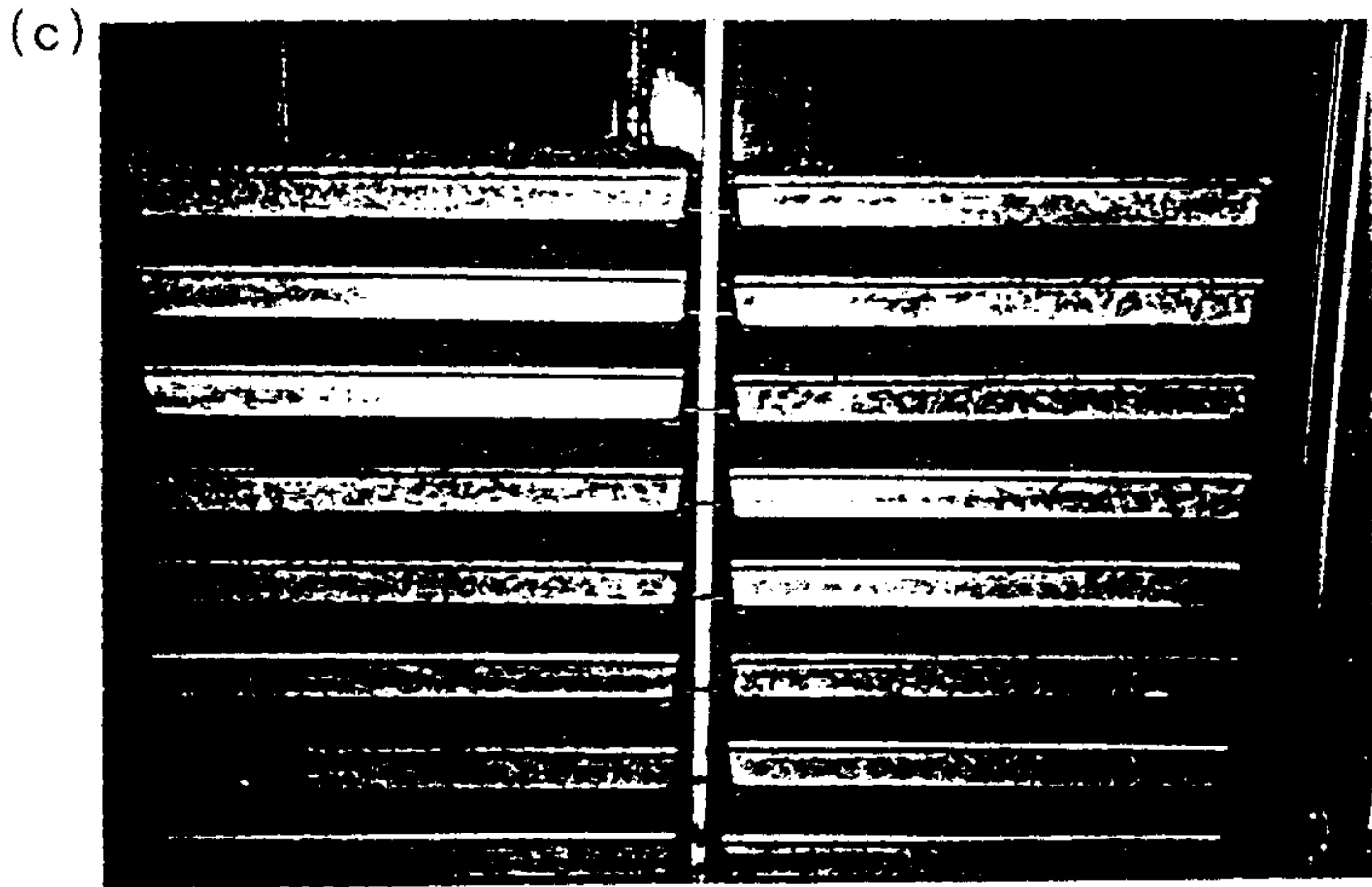
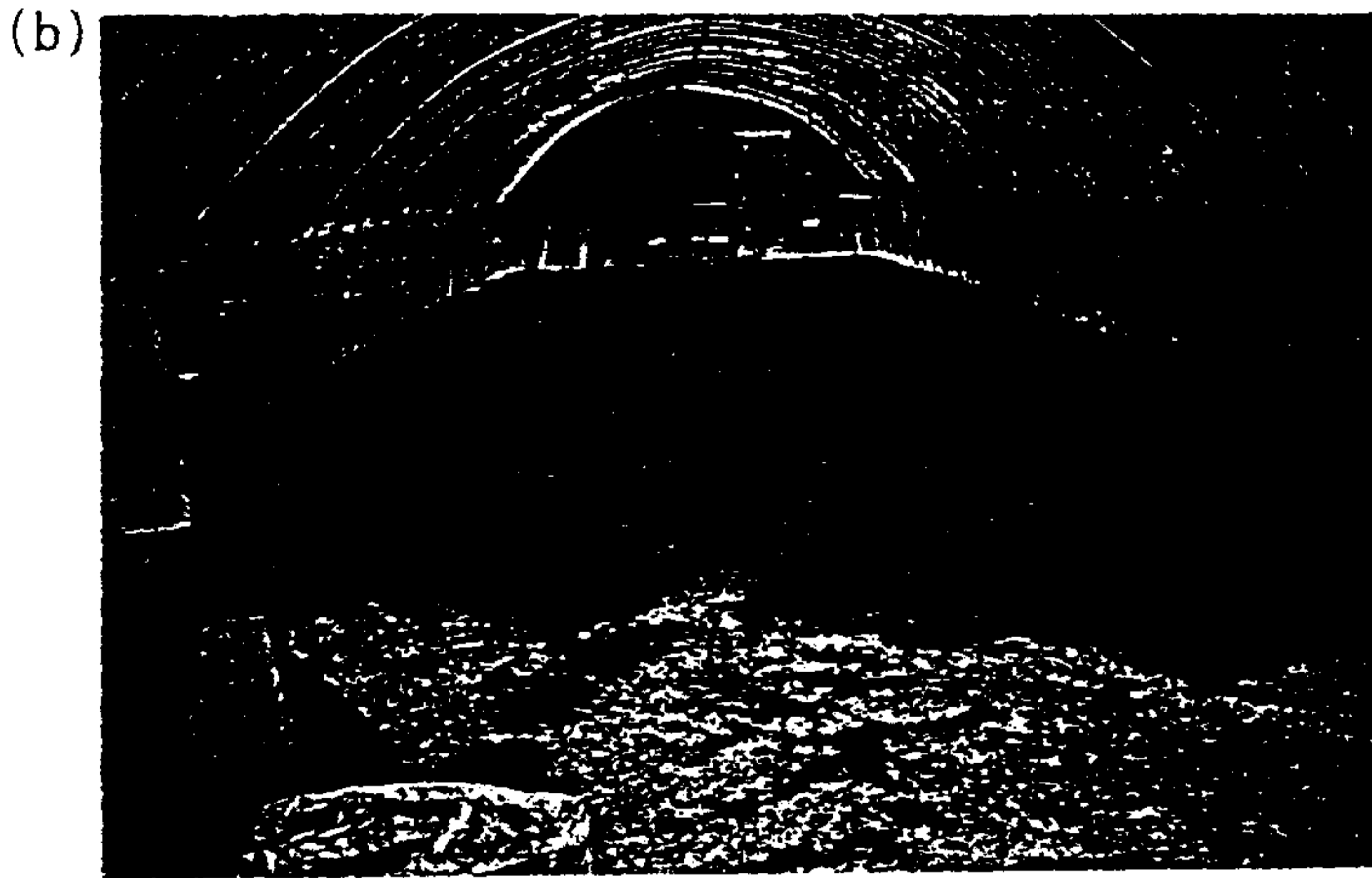
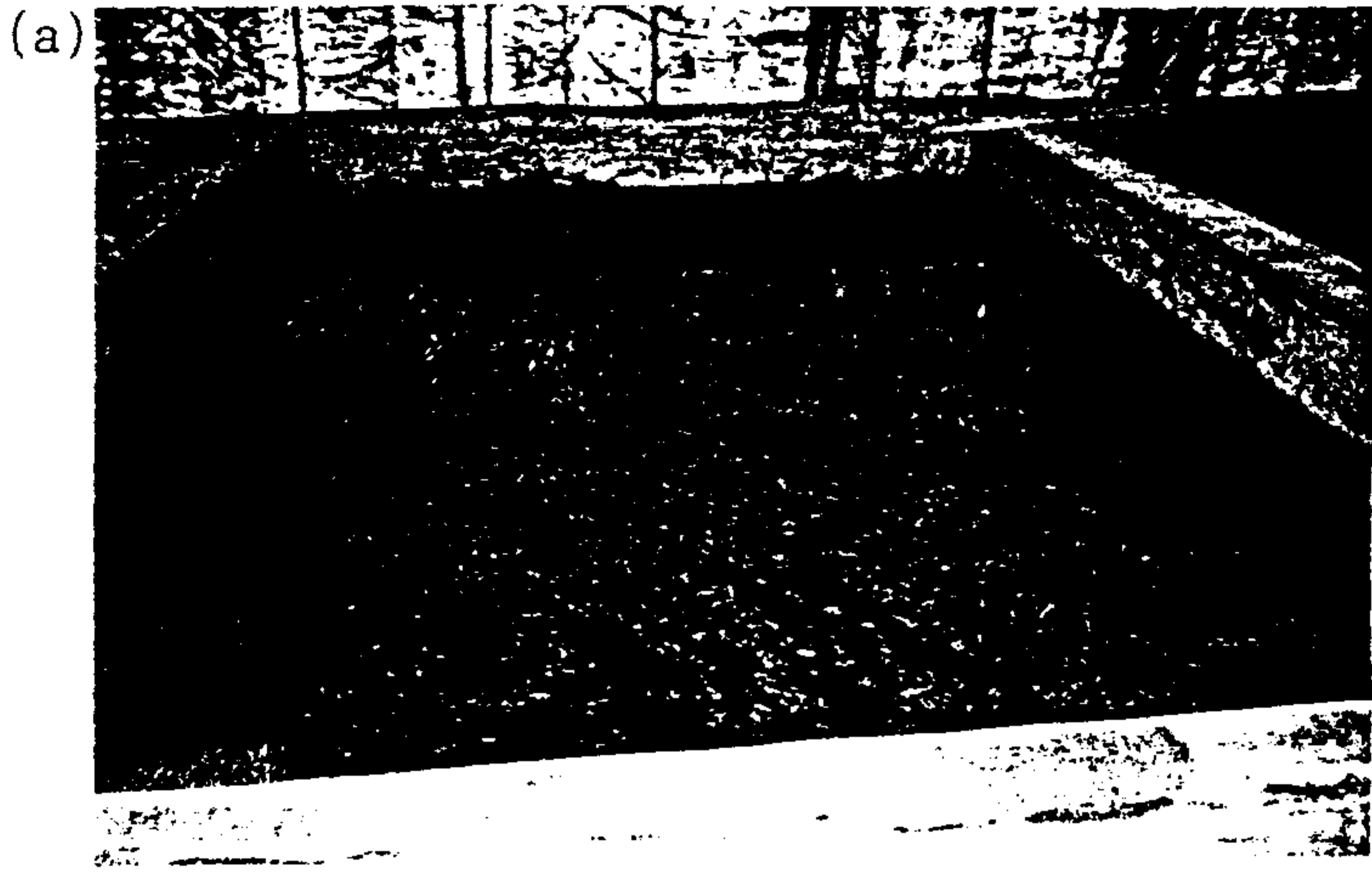


사진2. 맥아제조과정
(a)침지 (b)발아
(c)건조

IV. 요약

식혜 음료를 비롯한 전통식품가공의 원료로 이용되는 맥아의 효소여가를 향상시키기 위하여 보리 품종별 맥아 제조적성과 맥아 제조조건, 맥아 품질향상 방법에 대하여 실험결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 보리 품종별 발아율을 찰보리, 올보리, 새강보리, 두루보리가 높았고 쌀보리, 맥주 보리가 낮았으며 엽아 신장도는 찰보리, 올보리가 높았고 쌀보리, 새강보리, 두루보리가 낮았다.
2. 보리 α -amylase는 침지전에는 활성이 나타나지 않았으며 발아가 진행됨에 따라 급격히 증가하였고 품종별 α -amylase는 찰보리, 두루보리, 올보리순이었고 맥주보리, 쌀보리는 낮았으며 β -amylase는 두루보리, 찰보리, 쌀보리가 높았으나 맥주보리가 가장 낮았다.
3. 맥아 부위별 α , β -amylase역가는 대부분 배유부분에 존재하였으며 싹, 뿌리 부위에는 거의 존재하지 않았다.
4. 맥아 제조를 위하여 보리 침지조건은 15°C 지하수, 48시간 침지, 12시간 간격으로 환수하는 것이 효과적이었다.
5. α -amylase역가는 15°C에서는 발아 6일, 18°C와 21°C에서는 발아 4일에 최고에 달하였으며 β -amylase역가는 15°C에서는 발아 8일, 18°C에서는 발아 6일, 21°C에서는 발아 4일째에 최고에 달하였다.
6. 보리를 0.1% NaOH 용액에 침지하였을 때 α , β -amylase역가는 무처리에 비하여 상승되었으며 발아, 발근도 촉진되었다.
7. 보리 침지 과정 중 Gibberellic acid를 처리하였을 때 α , β -amylase역가는 상승되었고 Abscisic acid를 처리하였을 때 α -amylase역가는 저하하였고 β -amylase는 효과가 인정되지 않았다.

8. 보리를 0.3 ppm의 오존수에 침지하였을 때 α , β -amylase역가는 상승되었고 곰팡이의 발생은 억제되었다.
9. 생맥아는 55°C 이하의 열풍으로 건조하는 것이 효과적이었다.
10. 맥아 조효소액을 75% acetone으로 분획하였을 때 α -amylase역가는 70%, β -amylase역가는 50% 회수할 수 있었다.

V. 참고문헌

1. 신중현, 청량음료의 생산 및 업체 현황, 식품기술, 8(3), 3 (1995)
2. 한 억, 쌀 이용 전통음료의 산업화와 발전방향, 전통 식품의 현황과 품질 개선, 한국식품과학회 심포지움 발표 논문집, 169 (1995)
3. 신호선, 이강현, 이상영, 보리와 맥아의 지방질 성분에 관한 비교 연구, 식품과학회지 13, 30 (1981)
4. A.W.Macgregor, L.G.Dushnicky, Changes in barley endosperms during early stage of germination, J.Inst.Brew. 100, 85 (1994)
5. Varner, J.E : Plant physiol. 39, 413 (1964)
6. Chispeeds, M.J. and Varner, J.E., Plant physiol. 42, 1008 (1967)
7. Monotani, Y. and Kato, J., Plant physiol. 41, 1395(1966)
8. 四方治五郎, 醸協誌, 18, 494 (1960)
9. 四方治五郎, 醸協誌, 18, 600 (1960)
10. Reid, D.M. and Clements, J.B. Nature 217, 580 (1968)
11. 金鎮球, 金順東, 金光秀, 맥아 제조시 적색광 조사에 의한 α -amylase의 활성 변화, 식품과학회지, 17, 237 (1985)
12. 김진구, 신승렬, 김광수, 손태화, 맥아의 α -amylase isozyme에 미치는 Red light의 영향, 농화학회지, 31, 351 (1988)
13. Meyer, K.H., Fischer, E.H. and Piguet, A. Helv. chim. Acta, 34, 316 (1954)
14. K.Visuri and M. Nummi, Purification and characterisation of crystalline β -amylase from barley, Eur.J.Biochem, 28, 555 (1972)
15. D.E.Laberge and B.A. Marchydo, Changes in β -amylase enzyme of barley during malting, ASBC Journal 45, 140 (1987)
16. J.Hejgaard, Free and Bound β -amylase during malting of barley,

- J. Ins. Brew. 84, 43 (1978)
17. J.Hejgaard and S.Carleen, Immuno-electrophoretic identification of a heterodimer β -amylase in extracts of barley grain, J.Sci.Agric. 28, 900 (1977)
 18. A.W.Rowe and C.E. Well, The inhibition of β -amylase by ascorbic acid, Biochimica Biophysica Acta 65, 245 (1962)
 19. N.Prentice, S.Babler and S.Faber, Enzymic analysis of β -glucans in cereal grains, Cereal chemistry, 57, 198 (1980)
 20. Green E. and M.R.Corcoran, Plant physiol. 56, 801 (1975)
 21. 신응태, 김창제, 무발아 맥아의 당조성에 관한 연구, 영양 식량학회지, 14, 244 (1985)
 22. 김병목, 김영수, 방사선 조사에 의한 맥아 역가 증대에 관한 연구, 한국 농화학회지, 11, 131 (1969)
 23. 이춘기, 송현숙, 윤의병, 보리 이용도 증진 연구, 농촌진흥청 작물시험장 연구결과 보고, 232 (1994)
 24. 석호문, 박용곤, 남영중, 김준명, 손태화, 윤형식, 쌀보리의 발아과정 중 분리전분의 이화학적 특성, 한국 농화학회지, 31, 339 (1988)
 25. 신승렬, 송준희, 김광수, 박정용, 이갑량, 맥아제조시 유리, 결합, 중성지질의 변화, 한국 농화학회지, 29, 346 (1986)
 26. 李錫榮, 보리 품종들의 발아기 염해 반응, 충남대학교 박사 학위논문, 9(1993)
 27. 정승원, 김영호, 구민선, 신동빈, 정건섭, 김영수, 공장산고추장의 저장 기간 중 이화학적 특성의 변화, 한국 농화학회지, 26:4, 403(1994)
 28. Ghosh, A.K., Essential group of wheat β -amylase proceedings of the International Symposium on enzyme chemistry Tokyo and Tyoto 1957. 532 (1958)

29. Chaplin M.F. and J.F.Kennedy, Carbohydrate analysis: A practical approach IRL Press Ltd Oxford UK (1986)
30. Terrance G.Cooper, The tools of biochemistry. 53(1977)
31. A.W.Macgregor, L.G.Duchnick, S.W. Schroeder, Changes in barley endosperm during early stages of germination, J. Ins.Brew. 100, 85 (1994)
32. 이원종, 남희섭, 맥아근의 phosphodiesterase분리 및 성질, 한국농화학회지 발표 요지집, 186(1995, 10)
33. A.W.Macgregor and J. Daussant, Eviltion of α -amylase components during initial stages of barley germination with and without prior steeping. Cereal chemistry, 56,541(1979)
34. L.Narziss, Steeping as the foundation of modern malting technology. Technical quarterly, 8, 237(1966)
35. J.A.Doncleck, Aerobic steeping, J.A.S.B.C. 54, 34, (1979)
36. Yueshu Li and Mastafa Rehmanji, Effect of abscisic acid optical isomers, alone or in combination with gibberellic acid on barley malt quality. J.Am.Soc.Brew.chem. 52, 48(1994)
37. G.H.Palmer, D.I. Gernah, G.Mckeran and D.H.Nimmo, Influence of enzyme distribution on endosperm breakdown during malting. J. A. S. B. C. 43, 17(1985)
38. 内藤茂三, 食品工業へのOzoneの利用, Food chemicals 12, 27(1987)
39. 内藤茂三, Ozoneの食品への利用技術. Food chemicals, 51, 8(1989)
40. D.E.Briggs, Accelerating malting, J.A.S.B.C. 45, 1(1987)