최 종
연구보고서

당화용 엿기름의 효소력가 증진 및 품질기준설정에 관한 연구

Improvement of Enzymatic Activity and Establishment of Quality Standards for Barley Malt

연 구 기 관

경 원 대 학 교

농 림 부

제 출 문

농림부장관 귀하

본 보고서를 “당화용 엿기름의 효소력가 증진 및 품질기준설정에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

1998. 10. 31.

주관연구기관명 : 경 원 대 학 교
총괄연구책임자 : 이 영 택
연 구 원 : 장 학 길
연 구 원 : 목 철 균
연 구 원 : 석 호 문
(한국식품개발연구원)
협동연구기관명 : 작 물 시 험 장
협동연구책임자 : 서 세 정

요 약 문

Ⅰ. 제 목

당화용 엿기름의 효소력가 증진 및 품질기준설정에 관한 연구

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

ㅇ 엿기름의 품질특성중 특히 당화공정에서 전분의 당화에 관여하는 엿기름의 효소력가는 매우 중요하여 엿기름의 당화 효소력가를 높여야 할 필요성과 아울러 당화력 평가에 대한 기준이 시급히 마련되어야 함

ㅇ 당화용 엿기름의 효소력가를 증진할 수 있는 엿기름의 제조공정을 확립하고 엿기름의 품질을 결정하는데 기준이 되는 품질인자를 설정하며 현장에서 엿기름을 생산시에 신속하게 엿기름 품질을 검정할 수 있는 기술을 개발하고자 함

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 당화용 엿기름의 효소력가 향상을 위한 적정 제조공정을 확립

ㅇ 보리를 품종별로 제맥기를 사용하거나 제맥기 없는 현장조건하에서의 재래식 방법으로 엿기름으로 제조

ㅇ 침맥, 발아, 건조조건 등 엿기름의 제조조건을 확립하고 효소력가의 향상방안을 강구

2. 당화용 엿기름의 품질기준 설정

- ㅇ 당화용 엿기름 제조를 위한 보리 품종들의 용적중, 천립중, 발아율, 단백질, 풍만도, 파쇄립, 피해립, 색도 등 품질을 평가
- ㅇ 엿기름의 수분함량, 천립중, 제근전후 맥아수율, 초엽길이, 효소력가, 단백질 등 품질을 평가
- ㅇ 보리원맥과 엿기름 품질 상호간의 상관관계를 구명하여 엿기름의 효소력가와 관련한 품질요소 분석 및 품질지표를 설정

3 엿기름의 효소력가 검정 및 간이측정법의 개발

- ㅇ 엿기름의 전분분해 효소력가 검정방법을 비교, 검토하고 효소력가 검정방법간의 상관관계를 구명
- ㅇ 현장에서 신속하게 당화력을 검증할 수 있는 측정방법을 선발하고 간이 검정법을 개발

4. 엿기름의 사용방법 및 사용형태 검토

- ㅇ 엿기름의 분획에 의해 효소력가를 향상시킬 수 있는 방법을 연구하여 품질을 개선
- ㅇ 엿기름의 사용형태와 포장형태를 검토하여 엿기름 이용 제품의 다양화를 검토

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 엿기름의 적정 제조공정 확립

보리의 품종별 엿기름 제조적성을 조사하기 위하여 16개의 선정된 보리시료를 사용하였다. 엿기름은 제맥기를 사용하여 제조조건이 적절히 조절된 상태에서 제조하였는데 품종별로 정선된 보리 시료를 15℃ 침맥조에 넣고 48시간 침맥하여 16℃ 발아조내의 발아통에서 4일간 발아시킨 후 배조기에서 45℃ 온도로 24시간 동안 건조하였다. 한편으로는 국내 대부분의 영세한 엿기름 생산업체의 현장조건을 고려하여 제맥기를 사용하지 않고 재래식 방법으로 제조를 시도하였다.

제맥기를 사용하여 제조한 엿기름이 발아속도가 빠르고 효소력가가 높게 나타나는 등 제조적성이 더 우수하였으며 일부 6조 겉보리 품종에서 효소력가가 높아 이를 엿기름 제조에 적합한 품종의 선발자료 근거로 활용하도록 하였다. 재래식 방법으로 제조한 엿기름은 제조조건이 적절히 조절되지 않아 발아가 불균일하고 상대적으로 느리게 진행되는 등 엿기름의 제조조건 및 공정의 개선이 요구되었으며 엿기름의 적정 제조조건을 확립하기 위한 침맥, 발아, 건조조건을 검토하였다.

보리품종을 16℃에서 24, 48, 72시간 수침하는 동안 수분흡수율을 측정하여 침맥도를 조사하였으며 보리는 품종에 따라 수분흡수율에 있어 약간의 차이가 있었으나 보리품종별 침맥시간은 42 48 시간으로 별 차이가 없는 것으로 나타났다. 발아일수(2, 3, 4, 5일)에 따라 측정한 보리의 품종별(16품종) 초엽의 신장도는 품종에 따라 신장속도에 다소 차이를 보였는데 발아 5일 후에 94 123%의 초엽 신장도 분포를 나타내었다. 한편 발아율이 높은 보리품종이 초엽의 신장도가 높은 경향이 있는 것으로 나타났다.

엿기름의 발아조건을 자세하게 검토를 위해서 4품종의 보리(올보리, 동보리1호, 탑골보리, 진양보리)를 시료로 선정하여 제맥기를 사용, 엿기름으로 제조하였다. 보리를 17℃에서 48시간(수침:건침=2:1) 침맥하여 발아온도별(15, 18, 21℃), 발아일수별(3, 4, 5, 6일)로 제조조건을 달리하여 엿기름을 제조하였으며 엿기름의 효소력가 및 품질특성을 분석하였다. 보리는 발아가 진행됨에 따라 제맥손실이 증가하였으며 품종에 따라 엿기름 품질에 다소 차이를 보여주었다. 또한 발아온도가 높아질수록 발아속도가 빠르게 진행되어 제맥후 손실이 증가하였다.

엿기름의 효소력가를 전분의 분해에 따른 환원력으로 측정하여 나타낸 당화력(DP)은 18℃와 21℃에서 높게 나타났으나 21℃ 발아의 경우 18℃에 비해 당화력이 높지 않고 발아 5 6일경에는 당화력이 더 이상 증가하지 않아 18℃가 당화용 맥아제조의 발아온도로서 가장 적당한 것으로 나타났다. 올보리의 α-amylase 활성은 6일간 발아가 진행됨에 따라 계속 증가하였으며 진양보리의 경우 18℃에서 발아 5일 이후에 약간 감소하였다. α-Amylase 활성은 발아온도 15℃에서 가장 낮았으며 18℃에서 가장 높았고 21℃에서는 18℃에서 보다 약간 감소하였다. β-Amylase는 초기 원맥에서 상당한 활성을 가지고 있었으며 발아가 진행됨에 따라 지속적으로 증가하는 추세를 보여주었다. 그러나 18℃와 21℃에서 발아 4일 이후부터는 효소활성도에 있어 크게 차이를 보이지 않았다. 보리의 발아과정중에 있어 세포벽 분해가 전분의 분해에 앞서 진행되는데 세포벽을 구성하고 있는 대표적인 구조적 다당류 물질인 β-glucan을 분해시키는 β-glucanase의 합성에 의한 세포벽 분해효소의 작용이 일어났다. 진양보리는 발아가 진행됨에 따라 β-glucanase 활성이 증가하였는데 15℃에서 가장 낮았고 18℃에서 가장 높았으며 21℃에서는 약간 감소하였다. 올보리의 β-glucanase 활성은 발아가 진행됨에 따라 지속적으로 증가하였으며 발아온도가 높을수록 효소의 활성도가 높게 나타났다.

건조온도에 따른 엿기름의 효소력가(DP)는 40 50℃의 열풍건조기에서 건조하

였을때 가장 양호하였으며 60℃이상의 건조온도에서는 효소활성도가 떨어지는 것으로 나타났다. 한편 보리의 침지과정중 생장조절제인 Gibberellic acid의 첨가에 따른 엿기름의 효소력가를 측정한 결과는 GA3를 첨가한 처리구가 무처리구에 비해 DP 수치가 약간 증가하는 경향이 있었는데 많게는 약 20% 정도의 증가를 보여주었다. 침맥시 원맥에 GA3를 적량 처리함으로써 효소력가를 다소 증진시킬 수 있는 것으로 확인되었다.

엿기름의 적정 제조조건을 확립하기 위하여 침맥, 발아, 건조조건을 검토한 결과 침맥은 2일, 발아는 18℃에서 5일, 건조는 40 50℃에서 제조하는 것이 효소력가 및 품질에 있어서 가장 적합한 것으로 연구되었다. 국내 엿기름 제조기술 현황 및 문제점을 조사한 바에 의하면 현재 많은 영세한 생산업체에서 생산되고 있는 엿기름의 제조가 우리나라 기후조건으로 보아 계절별 발아온도 조절에 어려움이 있고 건조조건 역시 적절히 조절되고 있지 못한 실정이어서 현장의 엿기름 제조공정 및 품질관리상의 문제점을 해결하기 위한 엿기름 제조조건의 면밀한 검토, 개선이 필요한 것으로 제시되었다.

2. 엿기름의 품질기준 설정

보리품종이 엿기름의 효소력가에 미치는 영향을 조사하기 위하여 16 품종의 원맥 품질을 1차적으로 분석하여 엿기름의 품질기준을 설정하는데 기초자료로 하여 엿기름 품종의 선발에 활용가능토록 하였다. 보리원맥의 품질특성으로 수분함량, 용적중, 천립중(1,000 KW), 발아율(germinative capacity), 단백질 함량, 풍만도(kernel plumpness), 곡립의 색도(kernel color), 파쇄립(broken kernel), 피해립(damaged kernel) 등을 분석하였다. 보리원맥의 수분함량은 9.7 11.3% 분포(평균 10.4%)로 유사하였으며, 용적중은 평균 748g/ℓ였는데 6조보리 품종들이 694 764 g/ℓ의 분포로 2조보리인 진양보리의 769 g/ℓ에 비해 낮았고 쌀보리

품종이 793 g/ℓ로 가장 높게 나타났다. 보리품종의 천립중은 22.2 g 38.0 g의 분포로 평균 28.0 g 이었고 맥주맥인 2조 진양보리가 38.0 g으로 가장 높은 수치를 나타내었다. 2.0, 2.2, 2.5, 2.8 mm 체를 사용하여 곡립의 크기분포를 측정하였으며 곡립의 풍만도(% plumpness)는 품종에 따라 5.3 75.9% 범위로 큰 차이를 보여주었다. 보리원맥의 단백질 함량은 11.7 17.5%의 분포(평균 15.3%)였는데 2조보리인 진양보리가 14.4%로 낮았으며 일부 6조보리에서 단백질 함량이 13.5% 미만이었다. 보리 품종들의 발아율은 몇개 품종들을 제외하고는 거의 95% 이상을 나타내 발아율이 양호한 것으로 나타났다. 보리 곡립의 표면색도를 색차계를 사용하여 L, a, b값을 측정하였으며 보리품종들의 L값은 겉보리에서 50 60의 분포로 품종간에 차이를 보였으며 쌀보리가 겉보리에 비해 표면색도가 다소 어두운 것으로 나타났다.

일반적으로 곡립의 크기분포는 천립중과 정의 상관관계가 있어 보리 곡립의 크기분포나 곡립의 풍만도를 대체할 수 있는 간단하고도 쉬운 측정방법으로 천립중이 매우 유용한 것으로 판단되었다. 본 실험 결과에서도 확인된 바와 같이 보리의 천립중은 정립율(kernel assortment rate), 즉 곡립의 풍만도(% plumpness)와 서로 높은 정의 상관관계(r = 0.96)가 있었다. 또한 보리원맥의 단백질 함량은 엿기름의 수율과 부의 상관관계를 보였다.

16 품종의 보리를 제맥기를 사용하여 침맥, 발아, 배조의 제맥과정에 의해 제조한 엿기름의 품질을 분석하였다. 엿기름의 수분함량은 8.0 9.6%의 분포로 보리의 수분함량보다 낮았으며 뿌리를 제거하기전의 엿기름은 86.5 92.2%의 맥아수율을 주었고 제근후의 엿기름은 82.0 87.5%의 수율을 주어 품종별 12.5 18.0%의 제맥후 손실이 발생하였다. 엿기름의 명도인 L값은 48.8 61.8(평균 57.8) 였으며 천립중은 20.9 35.3 g(평균 24.8 g)의 범위로 보리원맥의 평균 천립중인 28.0 g으로부터 약 12%의 중량 감소가 있었다. 단백질 함량은 11.5 17.9%(15.3%)의 범위로 보리원맥 품종들과 비교하여 거의 변화가 없었다.

한편 현장조건하에서 재래식 방법으로 제조한 엿기름의 수분함량은 6.3 8.2% 였으며 엿기름의 수율은 86.3 94.4%(평균 90.8%)의 분포를 보여주어 제맥후 손실이 5.6 13.7%의 범위인 것으로 나타났다. 현장조건하에서 제조한 엿기름은 수율이 높았으나 발아속도가 제맥기에 의한 엿기름에 비해 느리고 품종간의 변이 폭에 있어서도 다소 크고 불규칙적인 것으로 나타났다. 현장조건하에서 제조한 엿기름은 제조조건이 적절히 조절되지 않아 발아가 불균일하고 발아가 상대적으로 느리게 진행되는 등 엿기름의 제조조건 및 공정의 개선이 요구됨에 따라 엿기름의 적정 제조조건을 검토한 연구결과를 현장에 적용하여 품질의 개선을 도모할 필요가 있었다.

엿기름의 품질중 가장 중요한 당화에 관여하는 효소의 활성도 혹은 전분을 분해하는데 관여하는 모든 효소를 총칭하여 나타내는 당화력(diastatic power, DP)은 보리품종에 따라 큰 차이를 나타냈다. 제맥기를 사용하여 제조한 엿기름의 경우 139 220。L의 범위였으며 현장조건하에서 제조한 엿기름은 80 140。L 사이로 전반적으로 제맥기에 의한 대조구의 엿기름이 현장조건하의 엿기름에 비해 약 1.7배 가량 당화력이 크게 높았다. 품종별로는 2조 겉보리에서 가장 낮았으며 오월보리, 탑골보리 등 6조 겉보리에서 높았고 쌀보리의 경우 6조 겉보리에 비해 약간 당화력이 낮게 나타났다. 제맥기에 의한 β-amylase와 α-amylase의 효소활성 역시 현장조건하에서 제조한 엿기름의 효소활성에 비해 높았다. 현장조건하에서 재래식으로 제조한 엿기름은 발아과정이 불균일하고 발아속도가 상대적으로 낮아 α-amylase의 합성이 충분치 않은 것으로 조사되었으며 효소력가 증진을 위한 제조공정의 개선 및 적정 제조공정의 확립이 필수적인 것으로 나타났다.

보리품종들의 용적중, 천립중, 발아율, 단백질 함량, 풍만도, 색도 등을 측정하여 엿기름의 당화 효소력과와의 상관관계를 조사한 결과 엿기름의 효소력가는 원맥의 품질인자와 상관관계가 크게 높지 않은 것으로 보이나 전반적으로 중량

이 적은 품종이나 덜 풍만한 품종에서 효소력가가 다소 높은 경향을 보여주었다. 보리원맥의 결합 β-amylase는 단백질 분해효소인 papain 처리에 의해 분리되어 나올 수 있으며 이에대한 당화 효소력을 평가할 수 있었다. 보리원맥이 지니고 있는 결합 β-amylase를 평가하는 잠재적인 당화력(Potential DP)을 측정한 결과에 의하면 발아후의 엿기름 당화력과 상관관계(r=0.79)가 있는 것으로 보여져 엿기름의 당화력을 예측할 수 있는 매우 중요한 품질인자인 것으로 판단되어 엿기름 제조를 위한 품종 선발에 필수적인 인자인 것으로 나타났다.

3. 엿기름의 효소력가 검정 및 간이측정법 개발

엿기름의 품질특성중 전분의 당화에 관여하는 효소의 활성은 매우 중요하며 맥아의 전분분해 당화력을 검정할 수 있는 공식적인 효소력가의 검정방법으로 우선 전분기질이 맥아내의 amylases에 의해 분해됨에 따른 환원력을 측정하여 나타낸 Diastatic Power(DP)를 측정하였다. 전분의 분해에 관여하는 대표적인 효소인 α-amylase와 β-amylase의 활성은 상업적 분석 kit를 사용하여 정확하게 측정되었다. 이들 분석 kit를 이용한 방법은 타 방법에 비해 보다 신속하고, 간편하며 신뢰도가 높은 측정방법으로 전분분해 효소인 β- 및 α-amylase을 정확하게 검정하기 위한 데이타로 활용을 목적으로 하였다.

전분의 당화력을 측정한 엿기름의 당화 효소력가 Diastic Power는 α-amylase 활성과는 상관관계가 거의 없는 반면에 β-amylase와 매우 높은 정의 상관관계(r=0.98)를 보여주어 엿기름의 β-amylase 활성이 당화력에 직접적으로 관여하는 중요한 인자인 것으로 나타났다. 전분의 분해에 관여하는 효소중 α-amylase는 곡립이 발아할 때 충분히 합성되어지는 반면에 β-amylase는 보통 보리원맥에서도 상당히 존재하는데 주로 단백질과 결합된 형태로 활성이 없는 상태에서 발아과정중에 효소활성이 적절히 증가하게 된다. 한편 당화용 엿기름의 효소력가를

간접적으로 측정하는 방법으로서 Amylograph를 사용하여 전분기질 점도감소 방법에 의해 측정한 결과 엿기름의 첨가에 의한 Amylograph 호화특성에서 점도의 감소는 β-amylase와는 별 관련이 없는 반면 발아중 합성되어지는 α-amylase와 관련(r=0.83)이 있는 것으로 확인되었다.

Diastatic Power는 엿기름의 당화력을 검정하는 기본적인 분석법이지만 분석에 상당한 시간을 요하여 현장에서 활용가능한 간편하고 신속한 평가 방법을 모색하였다. 우선 현장에서 엿기름의 효소력가를 간접적으로 평가하는 손쉬운 방법중의 하나가 발아하는 보리곡립에 대한 초엽의 신장도를 측정하여 판단할 수 있는 방법이며 발아일수별 초엽의 신장도와 엿기름 당화 효소력가를 분석하여 상관관계를 조사한 결과 신장도 120 180에서 당화력이 우수한 것으로 나타났다.

현장에서 발아보리의 효소를 신속하고 단순하게 측정할 수 있는 방법에 대하여 연구한 결과 전분을 기질로 포함하는 agar plate 상에서 기질이 분해되어가는 속도를 측정함으로써 평가할 수 있는 gel-diffusion 분석 방법이 적절한 것으로 판단되었다. 우선 엿기름 추출물을 전분이 포함된 agar gel상에 놓인 1cm filter paper disc에 적용한 후 이로부터 기질이 분해되어 확산되도록 적절히 반응시킨 후 묽은 요오드 용액(I2+KI)으로 남아있는 기질을 요오드 정색반응에 의해 청색으로 염색하였으며 이때 나타난 halo로부터 확산된 거리를 측정하였다. 효소의 분해 확산속도는 반응시간, 반응온도, agar gel의 깊이, 기질의 농도 등에 의해 영향을 받았는데, 이때의 조건으로 agar 농도 0.5% 1%, agar의 양 10 30 ㎖, 전분농도 0.05 0.1%, 엿기름 추출시 추출물의 농도는 20%, 추출물의 양은 20 ㎕가 적절한 것으로 나타났다. 반응온도가 30 70℃로 증가함에 따라 겔 확산 속도가 증가하였으며 40 55℃가 적절한 것으로 나타났다. 엿기름의 효소 추출물이 paper disc상의 agar 표면에 적용되었으며 당화력이 높거나 낮은 품종사이에서의 차이를 관찰할 수 있었다. 이 방법은 DP 측정과 같이 시간을 요하는 정량적 방법과 비교하여 상대적으로 정확하지 못한 단점이 있음에도 불구하고

곡립의 α-amylase 함량을 간편하고 신속하게 평가할 수 있는 장점이 있었다.

보리의 품종별 엿기름의 추출물을 gel-diffusion 방법에 의해 38℃에서 24시간 동안 반응시키는 동안 겔 확산 속도를 측정하였으며 3시간 반응후의 겔 확산은 1.35 1.70 mm 사이의 분포를 보여 품종에 따라서 크게는 5.0 mm의 겔 확산 차이를 보여주었다. 그러나 반응시간이 경과됨에 따라 품종별 겔 확산에 있어 큰 차이가 없이 품종간 최대 겔 확산 차이는 반응 6, 9, 12, 24시간에 각각 3, 2.5, 5, 5.5 mm 였다. 따라서 품종별 엿기름의 효소력에 따른 gel의 확산은 반응후 3시간 내외에서 판별할 수 있는 것으로 사료되었다. 겔확산은 α-amylase와 관련이 있어서 α-amylase 활성이 상대적으로 높게 조사된 새올보리, 알보리, 진양보리, 찰보리 등에서 겔확산이 높은 경향이었으며 α-amylase 활성이 낮은 강보리, 오월보리, 탑골보리, 새찰쌀보리 등에서 낮은 경향이 있었다. 품종에 따른 엿기름의 α-amylase 활성과 겔 확산은 약간의 상관관계를 준 반면 엿기름의 DP는 겔확산과 별 상관관계가 없는 것으로 조사되었다.

발아일수에 따른 엿기름 추출물에 대해 겔 확산 속도를 측정한 결과 2일간 침맥후부터 발아일수가 경과함에 따라 발아 0일에 겔 확산은 11.6 mm에서 지속적으로 증가하여 발아 6일에선 17.5 mm로 최고에 도달하였으며 발아 7일에는 겔 확산이 15.9 mm로 떨어졌다. 이러한 겔 확산 결과는 발아중의 α-amylase 합성이 발아 6일까지 지속적으로 증가하였으며 그 이후부터는 활성이 감소되었음을 제시해 주었다. 엿기름의 당화력과 관련이 있는 β-amylase의 활성 역시 발아아 함께 증가하여 α-amylase 활성과 유사한 증가를 보이기 때문에 α-amylase의 활성이 높은 발아 5 6일 경에 당화력 또한 가장 높은 것으로 여겨졌다. 발아조건에 따른 차이가 있지만 발아공정이 적절히 조절된다면 16 18℃에서 5 6일 발아시킨 보리 엿기름에서 당화력과 관련한 효소활성도가 가장 높으며 이때의 전분 겔 분해 확산속도와 관련한 α-amylase 활성은 품종간에 다소의 차이는 있지만 38℃에서 3시간 반응시킨 경우 약 15 17 mm 정도인 것으로

제시할 수 있었다.

대부분의 효소분석에서 많은 시간이 요구되는 효소추출의 절차를 없애 신속하게 효소력가를 측정하기 위한 방법으로 발아곡립을 직접 agar plate에 적용하여 겔 확산 속도를 측정하였다. 즉 발아곡립의 중앙을 칼로 반으로 나눈 후 곡립의 배아 반대쪽 끝의 자른 표면을 밑으로 하여 agar plate 표면에 세우고 효소반응을 진행하였으며 이때 효소반응에 의해 나타난 halo의 직경은 효소활성도 수치와 상관관계가 높은 것으로 나타났다. 적정 발아조건에서 5 6일간 발아시킨 엿기름의 효소력가가 우수한 품질인 것으로 간주하였을때 발아곡립의 겔 확산 직경은 10 mm 이상인 것으로 관찰되었다.

4. 엿기름의 사용방법 및 사용형태 검토

엿기름의 품질에 대한 문제점을 개선하기 위하여 우선 현재 시판되고 있는 엿기름 제품들을 수집하여 품질을 분석하였으며 이에 따른 엿기름의 효소력가를 향상시킬 수 있는 품질개선 방안을 모색하였다. 시판 엿기름의 입자크기를 조사한 결과 거의 대부분의 제품에서 40메쉬 이상의 입자들이 반 이상을 차지하여 대부분의 입자들이 상당히 크고 거친 것으로 조사되었다. 17개 시판 엿기름 제품들의 효소력가는 DP 46 130。L, β-amylase 334 1158 Betamyl unit, α-amylase 25 172 Ceralpha unit의 범위로 효소력가가 전반적으로 낮았으며 제품에 따라 큰 변이를 보여 효소활성 측면에서 품질이 고르지 못한 문제점을 지니고 있었다.

엿기름의 입자크기와 효소력가와의 상호관계를 보다 명확하게 알아보기 위해 일부 시판 엿기름 제품들을 20, 40, 60, 100, 140 메쉬 체를 사용하여 입자크기별로 분획한 후 각각의 효소력가를 측정하였다. 20 메쉬 이상의 거친 입자에서 효소력가가 가장 낮았으며 입자크기가 작아짐에 따라 증가하는 추세를 보였으나 140 메쉬 이하의 미세한 입자에서는 효소력가가 감소하였다. 엿기름의 입자크기

는 엿기름에서 추출되어져 나오는 당화효소와 관련이 있어 효소력가 측면에서 60 140 메쉬 사이의 입도 분포가 가장 적합한 것으로 나타났다. 따라서 시판 엿기름 가루를 추가적으로 분쇄하여 큰 입자를 줄이면 효소력가를 다소 증진시킬 수 있다고 판단되었으며 20 메쉬 이상의 큰 입자를 줄이고 140 메쉬 이하의 미분말을 제거함에 의해 손쉽게 엿기름의 효소력가 향상을 도모할 수 있는 방법이 제시되었다.

엿기름의 효소력가 향상을 위해 가정용 분쇄기를 사용하여 엿기름을 추가적으로 분쇄한 후 입자크기 분포와 효소력가를 측정하였으며 분쇄시간이 증가함(20 40초)에 따라 20 메쉬 이상의 아주 거친 입자들이 상당히 감소되어 약 40% 가량의 효소력가 증진을 도모할 수 있었다. 그러나 분쇄정도가 커질 경우 140 메쉬 이하의 상대적으로 미세한 분말이 증가하여 효소력가가 약간 감소하였다. 또한 추가 분쇄에 따른 엿기름의 입도가 엿기름의 β-amylase와 α-amylase의 효소활성에 미치는 영향을 조사한 결과 분쇄시간이 증가함(20 60초)에 따라 β-amylase와 α-amylase의 활성이 증가하였다. 엿기름의 입자크기별(20 140 메쉬) β-amylase의 활성은 20 메쉬 이상에서 가장 낮았고 40 140 메쉬 사이에서 완만히 증가하였으며 140 메쉬 이하에서는 다소 활성이 떨어졌다.

당화에 필요한 엿기름 추출액을 제조하는 과정에서 추출온도 및 시간은 매우 중요하며 20 40℃에서 증류수로 1 4시간 동안 추출한 엿기름의 추출액의 효소력가를 측정하였다. 추출시간이 증가할수록 추출액의 DP는 증가하였으며 추출온도에 따른 추출액의 DP는 20℃에 비해 30℃와 40℃에서 높았다. 엿기름의 당화시험에서는 40℃에서 2시간 동안 추출한 엿기름 추출액을 사용하여 60℃에서 당화시켜 당화액을 제조하였으며 당화시간별 당의 함량(%)을 측정하였다. 엿기름 추출시 엿기름의 양이 증가할수록 당화액의 당함량은 증가하는 경향을 보였으며 당화시 밥의 양이 증가할수록 식혜의 당함량은 현저히 증가하였다. 식혜제조시 당화공정은 엿기름:추출용수의 비를 1:20으로 쌀:추출액의 비는 1:3.3으로 하

는 것이 적절한 것으로 나타났다.

엿기름의 품질이 식혜의 당함량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 시판 엿기름중 효소활성에 차이가 있는 엿기름을 사용하여 식혜의 당화과정중 당의 함량을 측정, 비교하였다. 효소력가가 상대적으로 낮은 엿기름은 당의 함량이 낮아 당화 8시간 후에 7.3%에 불과하였으나 효소력가가 높은 엿기름은 당화 5시간 후에 당함량이 10%에 도달하여 상대적으로 높았다. 엿기름 가루의 입자크기는 당화 효소력가와 관련이 있으며 입자크기는 60 140 메쉬 사이가 적합한 것으로 조사된 바를 근거로 시판 엿기름가루로부터 40 메쉬 이상의 큰 입자를 제거하거나 엿기름 가루를 다시 분쇄하여 40 메쉬 이상의 큰 입자를 줄인 엿기름가루를 사용하여 당화시킨 결과 원래 엿기름에 비해 40 메쉬를 통과한 가루와 재분쇄하여 사용한 엿기름에서 당화액의 당도가 약가 증가하였다. 시판 엿기름에서 문제가 되는 엿기름 추출액의 당화 효소력가를 부분적으로 개선하기 위한 방안으로 엿기름가루의 입자크기를 조절하는 것이야말로 현장에서 적용할 수 있는 매우 간단하고도 손쉬운 방법임이 자명한 것으로 나타났다.

품종별로 제맥기를 사용하여 제조한 엿기름의 당화공정에 의한 당함량 분석에서는 발아조건이 잘 조절된 제맥기에 의해 제조된 엿기름이 시판 엿기름에 비해 효소력가가 훨씬 높아 당화에 따른 당도가 높은 것으로 확인되었다. 시판 엿기름의 경우 당화 8 10시간까지 지속적으로 당도가 증가한 반면에 제맥기에 의해 제조한 엿기름은 당화 1 2시간에 당도가 급격히 증가하여 당화 3시간에 10 Brix 이상이었으며 당화 4시간 이후에는 당도 증가가 아주 미미하였다. 당화력이 높은 엿기름은 당화 초기에 당도가 급격히 증가하는 것으로 나타나 당화 4시간 이내에 당화공정을 종결할 수 있는 것으로 판단되었으며 당화공정 시간 및 에너지를 절약할 수 있는 긍정적인 효과를 주었다. 제맥기에 의한 품종별 엿기름의 DP는 140 220。L범위로 시판 엿기름이 대부분이 100。L미만인 것을 고려할 때 당화시 요구되는 엿기름의 효소력가는 DP 150。L이상인 것으로 제시되었

다.

보리의 발아일수에 따른 엿기름으로부터 식혜의 당도를 측정한 결과 발아 2일된 보리로부터 만든 시료는 효소력가가 낮았으며 품질이 떨어지는 시판 엿기름과 유사하게 당도가 증가하는 추세를 보였으며 당화 8시간 후에 7.2 Brix의 낮은 당도를 주었다. 4일, 6일 발아된 보리의 경우 2일에 비해 당도가 현저히 높아졌으며 특히 발아 6일된 보리의 경우 대부분의 당화가 초기에 이루어져 바람직한 것으로 나타났다. 발아일수에 따른 엿기름의 DP 수치는 2일에 69, 4일 124, 6일 201。L로 증가하여 DP 150。L이상, 발아 5, 6일 경에서 당화력이 가장 우수한 것으로 나타났다.

식혜의 제조시간을 단축시키고 감미도를 증진시키기 위해 α-amylase, glucoamylase를 첨가하여 당화를 촉진하여 당화액의 대부분을 단당류로 분해할 수 있었다. 한편 효소력가가 높은 엿기름 품종을 이용하거나 입자크기에 따른 효소력가가 높은 분획의 혼합사용으로 maltose의 함량을 높이고 식혜 특유의 풍미를 제공할 수 있는 것으로 평가되었다.

엿기름의 여러 사용형태를 검토하기위해 엿기름의 추출시 추출액의 분리를 용이하게 하기 위하여 종이봉지(tea bag)로 포장하여 추출하였다. 또한 식혜의 제조를 간편하게 하기위해 tea-bag을 사용하여 직접적으로 추출 및 당화공정을 동시에 시도해 보았다. 엿기름을 tea-bag에 추출한 후 추출액을 사용하여 당화시킨 경우 재래식 추출법에 비해 당함량이 약간 떨어졌지만 큰 차이는 아니었으며 tea-bag을 사용하여 추출과 당화를 동시에 실시한 경우에는 당화초기에 당함량에서 차이가 있었으나 당화가 진행됨에 따라 당함량이 유사하였다. Tea-bag 추출에 의해 엿기름 추출액 분리가 용이해 질 수 있었으며 tea-bag사용 동시 추출/당화 공정은 효소력가가 높은 엿기름을 사용한다면 식혜제조를 간편화 할 수 있는 방법인 것으로 사료되었다.

SUMMARY

I. Title

Improvement of Enzymatic Activity and Establishment of Quality Standards for Barley Malt

II. Objective and Significance

Enzymatic activity in barley malt is important for saccharifying process of starch materials. Thus it is necessary to increase the enzymatic activity for starch degradation by proper manipulation of malting process.

The objectives of this project were to develop the optimun processing condition for manufacturing barley malts, and to investigate quality parameters for good quality malt. Subsequently the quality of barley malt should be readily controlled by rapid evaluation techniques in the malt manufacturing fields.

III. Scope

1. Optimum manufacturing conditions for barley malt were studied to improve the activities of starch-degrading enzymes. A number of barley varieties were tested for steeping, germination and drying conditions.

2. Quality standards for saccharifying barley malt were established. First, the quality of raw barley was evaluated for test weight(TW), 1,000 kernel weight(1,000 KW), germinative capacity, protein, % plumpness, broken and damaged kernels, and color. The quality of malt was then evaluated for 1,000 KW, protein, malt yield, malting loss, acrospire length, and hydrolyzing enzymatic activities. Relationships between barley and malt quality factors were analyzed, and the quality factors concerning enzymatic activity were selected.

3. Starch-degrading enzymes were tested by different methods, and any relationships among enzyme assays were carefully analyzed. A simple and rapid method for detecting enzymatic activity in germinating barley was developed.

4. Proper uses of barley malt were studied by testing fractionation by sieving, extraction and saccharification processing. Convenient usage for malt was also introduced by new type of packaging.

IV. Results and Recommendation

1. Optimum manufacturing conditions for barley malt

Sixteen barley varieties were selected, and they were steeped, germinated and dried to produce final malts. Barleys were malted under two different systems, automatically controlled malting system and conventional system

similar to traditional preparation. Barley grew fast in automatically controlled system, and the enzymatic activity of the final malt was appeard to be higher than in conventional system. Malting barley in conventional system resulted in slow and irregular germination. In case of practicing conventional system, optimun malting conditions should be applied to improve malting capability. Some 6-row hulled barley varieties were found to be good for malting in terms of enzymatic activity.

Barley varieties were steeped up to 72 hrs, and the water absorption was recorded during the steeping. Steeping time was in the range of 42 48 hrs. Varietal differences in acrospire length of growing barkey kernels were observed, and the acrospire length index of 5-day germinated barley was in the range of 94 123%.

Four selected barley varieties were malted to stdudy the effects of germination conditions in details. Barleys were steeped at 17℃ for 48 hrs and germinated at 15, 18, and 21℃ for 3, 4, 5, and 6 days. Malting loss was increased during germination and elevated at increased temperature. Differences in malt quality were observed among barley varieties. Diastatic power was relatively high in malts germinated at 18℃ and 21℃, and 18℃ seemed to be optimum for germination temperature. α-Amylase activity increased continuously during germination, in spite of a slight decrease in a variety after 5-day germination. α-Amylase activity was the lowest at 15℃ germination, the highest at 18℃, and intermediate at 21℃. Considerable amount of β-amylase was detected in raw barley and the enzymatic activity increased during germination. β-Glucanase activity also increased during 6-day germination process. Green malt was dried at different temperatures,

and appropriate drying temperature was 40 50℃. Enzyme activity in malt decreased at drying temperature of 〉 60℃. As above, It could be concluded that the optimum malting conditions were 2-day steeping, 5-day germination at 18℃, and drying at 40 50℃.

2. Establishment of quality standards for saccharifying barley malt

Sixteen barley varieties were evaluated for test weight, 1,000 kernel weight, germinative capacity, protein, plumpness, broken and damaged kernels, and color. Test weight of barley varieties was in the range of 694 769 g/ℓ. 1,000 kernel weight was in the range of 22.2 38.0 g(average of 28.0), and a 2-row barley had the highest value. Kernel size distribution was determined by sieving barley kernels, and the % plumpness showed a wide range of 5.3 75.9%. Protein contents of barleys varied from 11.7 to 17.5%. Germinative capacity of most barleys was appeared to be above 95%. A high correlationship(r=0.96) between 1,000 kernel weight and kernel size was found.

Moisture contents of malt samples were in the range of 8.0 9.0% and were lower than those of raw barleys. Malting loss was 12.5 18.0%. L values of malt samples were 48.8 61.8 which were similar to values of raw samples. 1,000 kernel weight of malts was in the range of 20.9 35.3 g (average of 24.8 g) which was about 12% reduction in weight from the original kernel. Protein contents of malt were almost similar to those of raw barley, ranging from 11.5 to 7.9% .

Diastatic power, measure of starch-saccharifying enzmye in malt, had a wide variation among the barley varieties. Diastatic power of malt prepared from automated malting system was 139 220。L and malt from conventional

malting system was 80 140° L, indicating that malt from automated system produced 1.7 times higher in diastatic power. While 2-row barley had the lowest DP, some 6-row barleys demonstrated significantly high DP values. β- and α-amylase activities were also high in malts prepared from the automated system.

Barley quality factors relating to enzymatic activity in malt were analyzed, and barley varieties with low kernel weight and less plumper kernels tended to produce higher enzymatic activity. Potential diastatic power, an estimate of bound β-amylase in raw barley, was associated with diastatic power in the final malt. Potential diastatic power turned out to be a significant factor for predicting good malting barley.

3. Comparative assays and development of rapid detection for starch-degrading enzymes in malt

Activities of starch-degrading enzymes were analyzed, based on AACC, ASBC, and EBC methods. β- and α-amylase activities were also analyzed by using commercial assay kits, which provided simple, convenient and reliable analytical procedures. Diastatic power was highly correlated with β-amylase activity, suggesting that β-amylase activity was an important factor determining saccharifying action in malt. Amylograph was used to indirectly estimate starch-degrading enzymatic activity, and the reduction in amylograph viscosity was associated with α-amylase activity.

Rapid estimation of enzymatic activity was required in the malt-producing small business factories. An easy way to estimate the enzymatic activity was to measure acrospire length of germinating barley kernels. Diastatic

power as well as acrospire length was measured during germination, and the optimum diastatic activity was turned out to be 120 180% of acrospire length index.

Gel diffusion assay was adopted to estimate the starch-degrading enzymatic activity in barley malts. Measured volumes of malt extracts were allowed to diffuse from 1 cm paper discs into agar impregnated with starch. After suitable incubation, the starch-agar gel plate was flooded with a dilute iodine solution to stain the remaining substrate blue. The diameter of resulting clear zones was related to enzyme activity. The extent of enzyme diffusion was affected by incubation time, temperature, the depth of agar gel, substrate concentration, etc. The optimun conditions for gel diffusion were as follows; agar concentration 0.5 1.0%, agar volume 10 30 ㎖, starch concentration 0.05 0.1%, extract volume 20 ㎕. The optimum incubation temperature was observed to be 40 55℃. Differences in gel diffusion diameter were observed among various malt varieties. The enzymatic activity of malt was the highest at 16 18℃ and 5 6 day germination, and the gel diffusion diameter was appeared to be 15 17 mm at 38℃ and 3 hr incubation.

Halved grains were applied directly to the starch-agar gel surface thus eleminating the need for enzyme extraction and removing one of the principal time-consuming parts of most enzyme assays. Enzymatic activity of growing barley kernels was high at 5 6 day germination periods, and the gel diffusion was observed to be more than 10 mm.

4. Improvement of usage for barley malt

Commercially available malt samples were collected and the quality of malt

products were analyzed. In most of malt products, coarse particles over 40 mesh accounted for more than 50% of all the particles. Diastatic power, β-amylase and α-amylase activities of 17 commercial malt samples were 46 130° L, 334 1158 Betamyl unit, and 25 172 Ceralpha unit, respectively. Commercial samples were generally low in enzyme activity and showed a wide variation in enzymatic activity. Malt particles were fractionated by sieving, and the fractions with particle size between 60 and 140 mesh showed reasonably good quality in terms of saccharifying enzyme activity. Enzymatic activity could be easily enhanced by reducing coarse particles more than 20 mesh and removing fine particles less than 140 mesh. Enzymatic activity could be easily increased approximately 40% by further grinding of the coarse particles in commercal malt products.

Diastatic power in water extracts of barley malt was related to extraction temperature and time. At 20 40℃ for 4 hr period, as extraction time and temperature increased, diastatic power increased. Sugar contents were measured during saccharifying process of malt extracts. Malt containing high diastatic power yielded high sugar content at the initial stage of sacchrification process, and thus saccrification processing could be terminated within 4 hrs. It was suggested that the minimun requirement of malt in terms of diastatic power was 150° L

CONTENTS

목 차

제 1 장 서 론

엿기름은 보리를 원료로 하여 침맥, 발아, 건조 등의 과정을 거쳐 제조되며 amylase의 효소원으로 오래전부터 식혜, 장류, 물엿, 맥주 등의 제조에 널리 사용되어져 왔다. 보리는 70년대 까지만 하더라도 쌀과 더불어 우리의 기본식량으로서 중요한 몫을 차지하였고 농가 소득증대는 물론 농지이용율 제고에도 크게 기여하여 왔으나 80년대에 들어서면서 국민의 식량소비구조가 변화됨에 따라 식용으로서의 보리소비가 크게 줄어들고 있는 실정이다. 보리의 재배면적은 지난 65년 82만 7천 ha에서 77년에 51만 6천 ha로 떨어졌고 95년에는 8만 8천 ha로 현저히 줄어들게 되어 보리쌀의 국민 1인당 연간 소비량도 65년 36.8 kg에서 95년에는 1.5 kg으로 큰 폭의 감소를 나타내고 있다[1].

보리는 이삭의 형태에 따라 2조(two-rowed)와 6조(six-rowed) 보리로 구분되며 또한 껍질(floral parts)이 씨알에 밀착하여 붙어있는 겉보리(hulled barley)와 성숙 후 껍질이 씨알에서 잘 분리되는 쌀보리(hulless barley)가 있다. 보리의 성분은 평균적으로 전분 64%, 단백질 11%, β-glucan 5%로 구성되어 있으며 나머지 20%는 수분, 지방, 회분, 섬유소, 그리고 소량의 비타민 등 미량 성분들을 포함하고 있다[2].

보리는 다른 곡류와 마찬가지로 식용으로 사용할 경우 과피, 종피, 호분층 등 외부층을 형성하고 있는 물질을 도정하여 섬유질에 의한 거친 조직감을 감소시켜 식감을 높일 수 있지만 쌀만큼 취반성이 좋지 못해 압맥 및 할맥의 형태로 가공하여 소비하고 있다. 지금까지 국내의 보리가공에 관해서는 압맥, 할맥외에 제분, 맥아, 밀가루에 대체 가능한 복합분 이용제품인 제빵, 제면, 제과 및 조리식품 등에 관한 연구가 있다[3]. 한국산 보리는 쌀보리와 6조 겉보리가 식용으로 소비되어 왔으며 식량 소비구조의 변화로 입식용으로서의 보리소비가 크게 줄고

있는 반면 맥주용 보리인 2조 겉보리는 맥주용으로 전량 이용되고 있으며4) 그 수요가 늘고 있는 추세이다.

최근에는 보리 엿기름을 사용하는 가공제품중 전통음료인 식혜제품이 현대인의 기호에 맞게 상업적으로 제조되어 시장이 급성장하고 있으며 산업적인 공정개발이 이루어져 있지만 식혜제조의 과학적 연구나 품질요소에 대한 정확한 지표가 없는 실정이어서 품질관리에 어려움이 있다. 식혜제품은 전통식품규격상 국내산 쌀 또는 찹쌀을 호화시켜 만든 고두밥을 주원료로 하여 보리 엿기름 추출액으로 당화시킨 후 가수 및 가당 등의 공정을 거쳐 제조되며5) 식혜의 품질은 쌀의 전분질이 엿기름의 당화효소로 인해 분해된 maltose에 주로 기인하여 독특한 풍미를 제공하기 때문에 엿기름의 품질이 매우 중요하다.

보리를 맥아로 제조하기 위하여 발아를 시키는 과정중에 전분질 배유가 가수분해되어 변형되는데 이는 보리의 호분층 세포에서 가수분해 효소들이 합성되어 호분층 세포벽으로부터 배유로 분비됨에 따른다. 이때 보리의 세포벽 분해가 전분의 분해에 앞서 진행되는데 발아중에 세포벽을 구성하고 있는 대표적인 구조적 다당류 물질인 β-glucan과 arabinoxylan을 분해시키는 β-glucanase와 xylanase와 같은 세포벽 분해효소의 작용이 일어나고 배유 전분질을 분해하는 효소인 α-amylase와 β-amylase의 작용이 계속적으로 진행된다. 발아하는 보리에 있어서 엿기름으로서의 품질특성중 특히 당화공정에서 전분의 당화에 관여하는 효소의 활성은 매우 중요하며, 적절한 발아조건의 확립은 엿기름의 품질향상을 위해 필요하다고 하겠다.

효소활성이 높은 엿기름의 품질이 중요함에도 불구하고 현재 국내의 엿기름 제조는 주로 영세한 규모의 업체들에 의해 제조과정이 적절히 관리되지 않고 있으며 엿기름의 효소력가가 균일하게 유지되지 않는 등 엿기름의 품질에 문제가 따르기 때문에 일정한 품질의 엿기름 공급이 어려운 실정이다. 또한 당화에 필요한 엿기름의 효소추출액을 제조하기 위해서는 사용하는 보리의 품종적 선발이

매우 중요하나 이에 대한 품질기준이 없는 상태여서 양질의 엿기름 생산을 위한 품질지표를 설정해야 할 필요성이 있다.

본 연구에서는 엿기름의 품질특성중 특히 당화공정에서 전분의 당화에 관여하는 엿기름의 효소력가를 증진할 수 있는 엿기름의 제조공정을 확립하고 엿기름의 품질을 결정하는데 기준이 되는 지표를 설정하여 현장에서 엿기름 생산시 신속하게 엿기름 품질을 검정할 수 있는 기술을 개발하고자 하였다.

농가 및 영세 엿기름 생산업체에서 엿기름을 제조할때 문제시 되고 있는 효소력가의 향상기술과 품질기준 설정은 농가 및 엿기름 가공업체의 애로사항을 해결하고 엿기름의 주원료인 6조 겉보리의 생산을 늘려 국내산 보리의 생산기반을 유지, 확대할 수 있다. 국내 엿기름의 수요는 증가하고 있는 추세여서 이에 대한 수급조절이 필수적이며 외국산의 수입도 전망되고 있어 국내농업을 보호한다는 측면에서 중요하다. 보리의 적절한 소비증가에 따른 재배의 확대는 국내부존자원의 보존이용을 높이고 겨울철 유휴농경지 이용과 산소공급의 측면 뿐 만 아니라 환경보호적 측면에서도 중요하다. 고품질의 엿기름을 이용하여 우리나라 전통식품 및 음료의 활성화를 꾀하고 세계적인 상품으로 개발한다면 국민적 자긍심이 고취될 것으로 전망된다.

제 2 장 재료 및 방법

제 1절 재 료

엿기름 원료로서 본 실험에 사용한 보리품종은 6조 겉보리 13품종, 2조 겉보리 1품종, 쌀보리 2품종으로 모두 16품종이었다. 보리 시료는 1996년도 수원에서 수확되었으며 농진청 작물시험장 맥류과로부터 제공받았다. 실험에 사용한 보리 품종들은 다음과 같다: 진양보리 (2조 겉보리); 강보리, 낙영보리, 대진보리, 밀양 겉보리, 새강보리, 새알보리, 새올보리, 알보리, 오월보리, 올보리, 찰보리, 큰알보리, 탑골보리 (6조 겉보리); 긴쌀보리, 새찰쌀보리 (쌀보리). 보리는 이물질과 손상된 곡립을 제거하기위해 체를 사용하여 정선하였다. 보리시료는 0.5 mm screen을 사용한 Cyclotec Sample Mill(US Corporation, U.S.A.)로 분쇄하여 분석용 시료로 사용하였다.

제 2절 실험방법

1. 보리의 품질 분석

가. 용적중

보리의 용적중은 g/ℓ로 측정되었으며 수분함량이 13.5%를 초과하는 경우 건조하여 용적중을 측정하였다.

나. 수분

보리의 수분은 Air-oven법[6]에 의해 측정하였으며 전체무게에 대한 %로 나타

내었다.

다. 단백질

단백질은 AACC(American Association of Cereal Chemists)방법6)에 준해 Tecator Kjeltec Auto 1030 Analyzer(Tecator, Sweden)를 사용하여 측정하였으며 질소계수 6.25를 적용하여 건물중에 대한 %로 계산하였다.

라. 천립중

보리의 천립중은 ASBC(American Society of Brewing Chemists)방법 7)Barley-2D에 의해 보리곡립 1,000개의 무게를 측정하였다.

마. 곡립의 크기

보리곡립의 크기는 EBC(European Brewery Convention)방법8)3.8에 의해 결정하였다. 100 g의 보리를 2.0, 2.2, 2.5, 2.8 mm체를 사용한 KM Barley Sieving Grader(KIYA SEISAKUSHO, Ltd., Japan)에 의해 5분간 체질한 후 각각의 체에 남은 무게를 측정하여 전체무게에 대한 %로 나타내었다. % Plump는 2.5 mm 이상의 체에 남아있는 곡립으로 표시하였다.

바. 발아율

발아율은 ASBC hydrogen peroxide 방법(Barley-3,B)에 의해 결정하였다. 보리곡립 100개를 0.75% H_2O_2 100 ㎖에 넣고 48시간 후에 발아된 보리곡립(chitted barley kernel)을 %로 나타내었다

사. 파쇄립과 피해립

파쇄립과 피해립은 ASBC 방법 Barley-2F에 의하여 측정하였다. 25 g의 정선된 보리곡립으로부터 보리곡립의 깨진 조각, 전체 껍질의 1/3 이상이 벗겨진 곡립, 배아부분 껍질이 닳거나 벗겨진 곡립을 제거하여 전체에 대한 %로 나타내었다.

아. 색도

분쇄시료 일정량을 sample cup에 칭량한 다음 Color and color difference meter(Minilta CR-200, Japan)를 사용하여 표면색도 값을 측정하였다.

자. Potential Diastatic Power

보리의 Potential Diastatic Power는 AACC방법[6]에 따라 맥아대신 보리원맥을 시료로 하여 측정하였다.

차. β-Glucan

보리의 β-glucan 함량은 McCleary와 Glennie-Holms의 방법[9]에 의하여 측정하였다. 즉 시료 0.5 g을 polypropylene 튜브(용량 50 ㎖)에 넣고 시료가 잘 분산되도록 50%(v/v) ethanol 용액 1 ㎖를 가한 다음 연속하여 5 ㎖의 인산완충용액(20 mM sodium phosphate, pH 6.5)을 가하고 나서 보텍스 믹서로 교반하여 시료를 잘 혼합하였다. 튜브를 끓는물에서 2분간 가열한 다음 보텍스 믹서로 교반하고 다시 3분간 가열하였다. 튜브의 내용물을 교반하고 40℃로 냉각시킨 다음 lichenase(50U/㎖ in 20 mM 인산완충액, pH 6.5) 0.2 ㎖를 가하고 조심스럽게 흔들어 준다음 40℃의 항온수조에서 1시간 동안 반응시켰다. 튜브에 24 ㎖의 증류수를 가하여 전체부피를 30 ㎖가 되게 정용한 다음 잘 교반하고 원심분리(3000 rpm, 10분)하였다. 상징액 0.1 ㎖씩을 3개의 시험관에 조심스럽게 분취한 다음 이중 1개에는 초산완충용액(50 mM, pH 4.0) 0.1 ㎖를 가하고 다른 두개의 시험관에는 β-glucosidase(2U/㎖ in 50 mM sodium acetate buffer, pH 4.0)를 가하여 40℃에서 15분간 반응시켰다. 여기에 3.0 ㎖의 glucose oxidase/peroxidase 시약(Megazyme, glucose 측정 kit)을 가하고 40℃에서 20분간 반응시킨 다음 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. β-Glucan 함량은 다음식에 따라 산출하였다.

$$\beta\text{-Glucan}\ (\%) = \Delta E \times F/W \times 27$$

〔ΔE = 시료의 흡광도-공시험액의 흡광도, F = 100/포도당 100 ㎍(표준액)의 흡광도, W = 채취시료의 건조무게 (㎎)〕

2. 엿기름의 제조

가. 제맥기 사용

엿기름의 제조는 우선적으로 제맥기(Nordon Co., France)를 사용하여 자동으로 제어되는 조건하에서 실행하였다. 품종별로 정선된 보리 시료 200 g을 15℃ 침맥조(steeping cabinet)에 넣고 48시간 침맥하였으며 침맥 후 보리는 16℃ 발아조(germination cabinet)내의 발아통에서 4일간 발아시켰다. 발아중의 보리가 서로 엉킴을 방지하기위해 발아통을 1일 6회씩 간헐적으로 회전시켜 저어 주었으며, 발아중의 보리에 2일 간격으로 1회 살수를 하여 적절한 수분을 유지하였다. 4일간의 발아후 시료를 발아조로부터 꺼내 배조기(kilning cabinet)로 옮긴 후 45℃에서 24시간 동안 건조하였다. 건조 후 시료를 배조기로부터 꺼내 실온에서 냉각하였으며 전체적으로 균일한 수분 분포를 유지하기위해 하루동안 저장한 후 제근하여 정선된 엿기름을 얻었다.

엿기름의 제조조건을 자세하게 검토하기 위한 실험에서는 일정량의 보리를 17℃에서 48시간 침맥하고 발아온도, 발아일수, 건조온도를 달리하여 엿기름을 제조하였다.

나. 재래식 방법

국내 대부분의 영세한 엿기름 가공업체에서 제조되고 있는 현장조건을 고려하여 제맥기를 사용하지 않고 재래식 방법으로 엿기름을 제조하였다. 이때의 제조과정은 정선된 보리를 petri dish의 물에 충분히 적신 여과지 상에서 15 16℃로 조절한 발아상에 넣고 발아시킨 후 건조오븐을 사용하여 일정한 온도에서 건조하였다.

3. 엿기름의 품질 분석

가. 수분

엿기름의 수분은 Air-oven 법에 의해 측정하였으며 전체무게에 대한 %로 나타내었다.

나. 단백질

엿기름의 단백질은 AACC 방법(6)에 준해 Tecator Kjeltec Auto 1030 Analyzer(Tecator, Sweden)를 사용하여 보리와 동일하게 측정하였다.

다. β-Glucan

엿기름의 β-glucan 함량은 보리와 마찬가지로 McCleary와 Glennie-Holms의 방법(9)에 준해 측정하였는데 다음의 전처리 과정을 행하였다. 즉 엿기름 가루 1.0 g에 50%(v/v) ethanol 용액 5 ㎖를 가한 다음 끓는물에서 5분간 가열한 다음 보텍스 믹서로 잘 교반하였다. 10분간 3000 rpm에서 원심분리한 후 상징액을 버리고 침전물에 10 ㎖ 50% ethanol 용액을 넣고 재분산시켜 혼합한 다음 원심분리후 상징액을 제거하였다. 침전물을 5.0 ㎖ 인산완충용액 (20 mM, pH 6.5)에 분산시킨다음 끓는 물에 가열처리하는 과정이후 부터는 보리의 β-glucan 측정법에 따라 분석하였다.

라. 천립중

엿기름의 천립중은 ASBC방법(7) Malt-2C에 의해 엿기름 곡립 500개의 무게를 측정한 후 2배하여 계산하였다.

마. 초엽의 길이

맥아의 초엽 길이(Length of acrospire)는 ASBC 방법(7) Malt-2F에 의해 측정하였다. 즉 녹맥아(green malt) 10 15 g을 100 150 ㎖ 물에 넣고 20 30분간 끓인 후 식힌 다음 엿기름 곡립 100개를 무작위로 선발하여 초엽의 길이를 측정하였다. 녹맥아의 길이에 의한 초엽의 성장은 곡립의 전체길이와 비교했을때 0

1/4, 1/4 1/2, 1/2 3/4, 3/4 1, 1 1 1/4 등으로 분류되었으며 초엽이 곡립의 길이만큼 성장하였을때의 신장도를 100%로 나타내어 초엽의 평균 신장도(%)를 계산하였다.

바. 제맥후 손실

엿기름의 수율은 엿기름의 중량(d.b.) × 100 / 보리의 중량(d.b.)로 나타내었으며 제맥후의 손실(malting loss)은 보리의 엿기름 제조시 중량의 손실로서 [보리의 중량(d.b.) - 엿기름의 중량(d.b.)] × 100 / 보리의 중량(d.b.) 으로 계산하였다.

4. 효소활성도 측정

가. Diastatic Power(DP)

엿기름의 당화력은 AACC방법[6]에 준하여 측정하였다. 잘 분쇄한 엿기름 시료 5 g(±0.01 g)을 200 ㎖ E-flask에 넣고 증류수 100 ㎖를 넣은 다음 마개로 막고 저어준 후 20℃로 유지된 항온수조에 2시간 반 동안 놓아두었다. 항온수조에서 추출하는 동안 20분 간격으로 플라스크를 매우 조심스럽게 돌려서 저어주었으며 이때 내용물이 플라스크의 내벽에 많이 안 붙도록 조심하였다. 2시간 30분 동안 추출 후 20 cm funnel에 18 32 cm의 접힌 여과지를 통해 추출물을 여과하였는데 이때 초기 50 ㎖ 여과액을 funnel에 다시 부어주며 그 후부터 30분간 더 여과하였으며 여과중에는 증발방지를 위하여 watch-glass를 덮어두었다. 피펫을 사용하여 100 ㎖ 전분용액(2%, w/v)을 200 ㎖ 정용 플라스크에 넣고 20℃로 유지된 항온수조에 놓아 두었다.

용액이 20℃에 도달했을때 정확히 2 ㎖의 엿기름 추출물 여과액(malt infusion)을 넣으며 이때 pipette 끝이 플라스크의 내벽에 닿은 상태에서 마지막 한 방울까지 조심스럽게 넣어주었으며 전분 용액을 즉시 혼합하였다. 엿기름 추출물 여

과액을 넣는 순간부터 정확히 30분 후에 10 ㎖의 0.5 N NaOH 용액을 빠르게 넣었으며 이를 아주 잘 혼합하였다. 맥아의 diastatic power가 135 °L이 초과하는 경우에는 맥아 추출물 여과액을 2 ㎖를 넣어 사용하는 대신 1 ㎖를 사용하였다. 엿기름 추출물 여과액에 의해 분해된 전분용액 5 ㎖를 취해 125 ㎖ E-flask에 넣고 10 ㎖ alkaline ferricyanide 시약을 첨가하여 혼합한 후 플라스크를 격렬히 끓는 물에 담갔으며 이때 플라스크의 용액이 끓는 물보다 약간 밑으로 잠긴상태가 되도록 하였다. 끓는 물에 정확히 20분간 담근후에 플라스크를 꺼내 흐르는 물로써 실온상태로 냉각하였다. 25 ㎖의 acetic acid와 1 ㎖의 전분-KI 용액을 첨가하고 돌려서 잘 혼합한 다음 0.05 N sodium thiosulfate 용액을 사용하여 파란색이 완전히 없어질때까지 적정하였으며 적정량을 0.01 ㎖ 까지 기록하였다. 전분 blank는 200 ㎖ 정용 플라스크에 100 ㎖ buffered 전분용액을 넣고 10 ㎖ 0.5 N NaOH를 첨가한 다음 증류수로 200 ㎖되게 정용하여 준비하였다. 엿기름의 diastatic power는 다음식에 의해 산출하였다.

Diastatic Power (°L) = (B-A) × 18 (2 ㎖ 엿기름 추출물 여과액 사용시)
× 36 (1 ㎖ 엿기름 추출물 여과액 사용시)

B = 전분 blank에 대한 sodium thiosulfate의 ㎖
A = 엿기름 시료에 대한 sodium thiosulfate의 ㎖

나. β-Amylase 활성

β-Amylase 활성은 Betamyl β-Amylase assay kit(Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였다[10]. 맥아나 보리를 0.5 mm 스크린을 통과하도록 Cyclotec mill(Tecator Co., Sweden)을 사용하여 분쇄하였다. 정확히 0.5 g의 가루에 5.0 ㎖ 추출 buffer를 첨가한 후 20℃에서 1시간 동안 가끔 보텍스 믹서로 격렬히 저

어주면서 효소를 추출하였다. 추출 효소액은 1,000 g 에서 10분간 원심분리하여 분리하였으며 상징액 0.2 ㎖를 buffer를 사용하여 10.0 ㎖로 희석하고 이용액 0.2 ㎖를 buffer에 의해 5.0 ㎖로 더 희석하였다.

0.2 ㎖ Betamyl β-Amylase 기질 용액을 유리 시험관 바닥에 넣고 항온수조 내에서 약 5분간 40℃에서 내용물을 유지시켜 두었으며 희석된 효소추출액 역시 약 5분간 40℃로 유지하였다. Betamyl 기질 용액을 포함하는 튜브에 효소추출액(적절히 희석된) 0.2 ㎖를 튜브의 바닥에 직접적으로 첨가하고 40℃에서 정확히 10분간 반응시켰다. 10분간의 반응후 정확히 3.0 ㎖의 반응종결시약을 넣고 튜브 내용물을 저어주었으며 반응 내용물의 흡광도를 410 nm에서 측정하였다. 증류수를 사용한 reaction blank의 흡광도 역시 410 nm에서 측정하였다. β-Amylase 활성 측정에 대한 이론적인 배경은 그림 1과 같다.

β-amylase 효소 활성은 다음에 의해 계산되었다:

Units/g 가루 = ΔE410 x 1194

1 Unit의 효소활성은 정해진 분석조건하에서 충분하게 존재하는 α-glucosidase와 함께 1분동안 PGPN5로부터 p-nitrophenol 1 micromole을 생성하는데 필요로 하는 효소의 양으로 정의되며 Betamyl Unit으로 표시하였다.

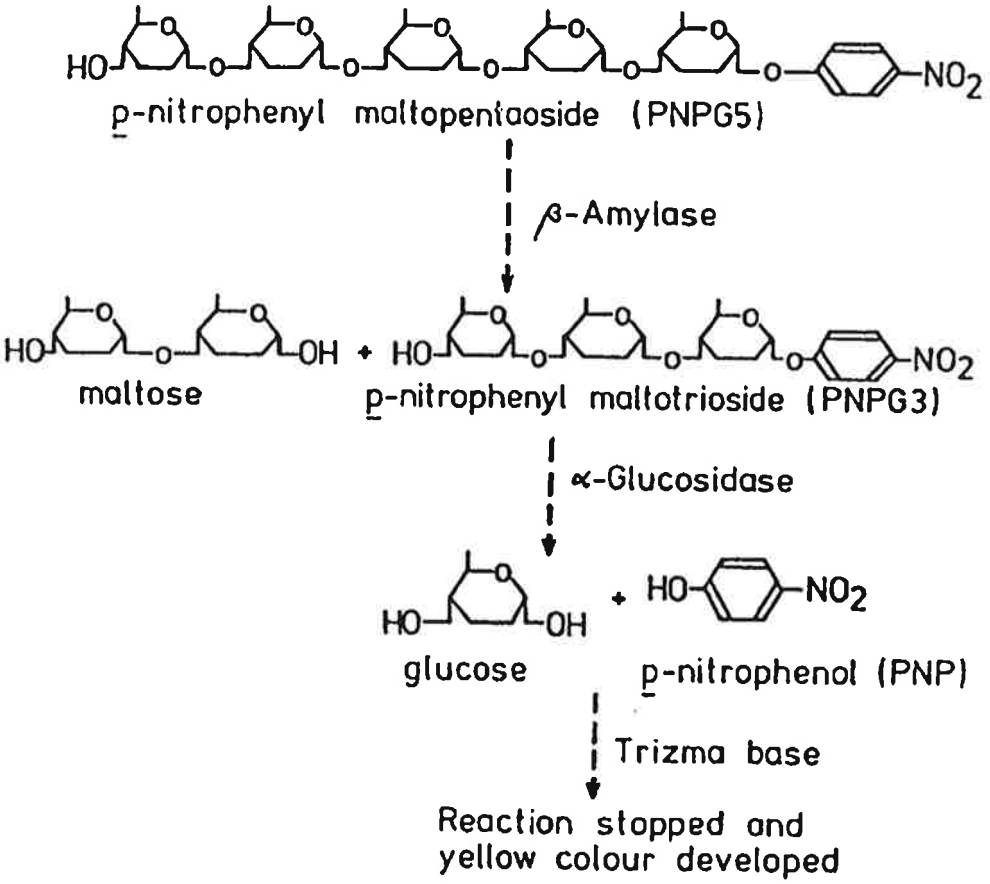

그림 1. β-Amylase 분석 절차

다. α-Amylase 활성

α-Amylase 활성은 Ceralpha α-Amylase assay kit(Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였다[11]. 맥아, 혹은 보리를 0.5 mm 스크린을 통과하도록 Cyclotec mill(Tecator Co., Sweden)을 사용하여 분쇄하여 시료로 사용하였다. 보리가루의 경우 0.5 g의 가루시료를 12 ㎖ 원심분리튜브에 넣고 5.0 ㎖ 추출 buffer 용액(pH 5.2)을 첨가하여 격렬하게 저어주었으며 20℃에서 5분간 간헐절으로 혼합하면서 효소를 추출하였다. 추출용액은 원심분리(1000 g, 10분)하여 2시간 이내에 효소활성을 측정하였다. 맥아가루의 효소추출은 0.5 g의 가루를 100 ㎖ 정용플라스크에 넣고 1% sodium chloride + 0.02% calcium chloride + 0.02% sodium azide 용액으로 정용하였다. 20℃에서 대략 15분동안 가끔씩 저어주면서 효소를 추출하였으며 추출액을 1000 g에서 10분간 원심분리하였다. 상징액 0.5 ㎖를 9.5 ㎖ 추출 buffer 용액으로 희석하고 2시간 이내에 효소력가를 측정하였다.

0.2 ㎖ Ceralpha α-amylase 기질용액을 테스트 튜브에 넣고 40℃의 항온수조내에서 5분간 유지시켜 두었으며, 추출, 희석된 효소추출액도 40℃에서 5분간 유지시켰다. Ceralpha 기질 용액(0.2 ㎖)을 포함하는 각각의 튜브에 0.2 ㎖ 효소추출물(적절히 희석된)을 튜브의 바닥에 직접 첨가하였으며 첨가 순간부터 40℃에서 정확하게 10분간 반응시켰다. 10분간 반응후 3.0 ㎖의 반응종결 시약을 넣고 튜브 내용물을 격렬하게 저어주었으며 용액의 흡광도를 410 nm에서 측정하였다. 증류수를 사용한 reagent blank의 흡광도를 측정하였다. α-Amylase 활성 측정에 대한 이론적인 배경은 그림 2에 요약되어 있다.

α-amylase의 효소활성은 다음에 의해 계산하였다.

Units/g 가루 = ΔE410 x 0.955 (보리가루), Units/g 가루 = ΔE410 x 382 (맥아가루)

1 Unit의 효소활성은 정해진 분석조건하에서 충분하게 존재하는 α-glucosidase와 glucoamylase와 함께 1분동안 PGPN7으로부터 p-nitrophenol 1

micromole을 생성하는데 필요로 하는 효소의 양으로 정의되며 Ceralpha Unit으로 표시되었다.

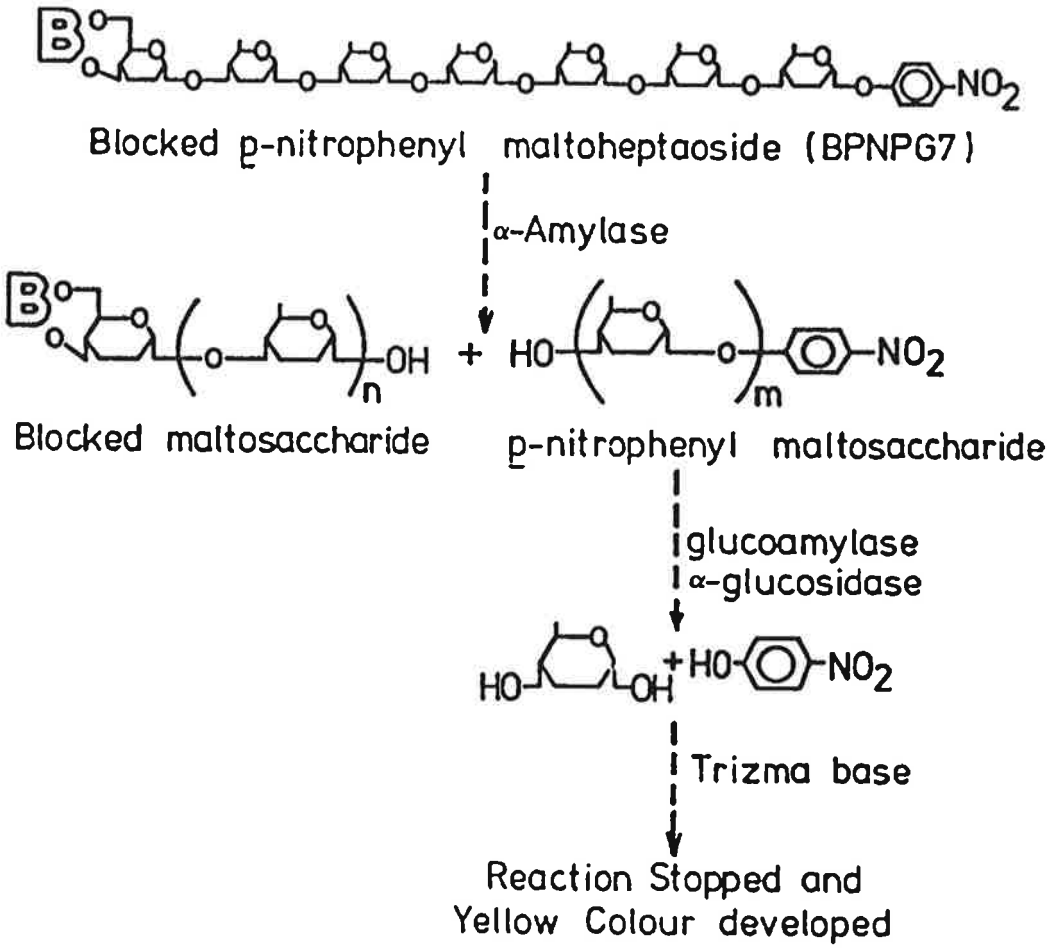

그림 2. α-Amylase 분석 절차

라. β-Glucanase 활성[12]

맥아를 Tecator Cyclotec mill을 사용하여 0.5 mm 스크린을 통과하도록 분쇄하였다. 0.5 g 맥아가루를 유리 원심분리튜브(14 × 120 mm, 17 ㎖ 용량)에 넣고 8.0 ㎖ 추출 buffer 용액 (40 mM acetate/phosphate, pH 4.6)을 첨가하여 볼텍스 믹서로 내용물을 잘 혼합하였다. 실온에서(30℃ 미만) 15분간에 걸쳐 간헐적으로 저어주면서 효소를 추출하였으며 1000 g에서 10분간 원심분리하였다.

30℃로 미리 온도조절된 0.5 ㎖ Azo-Barley glucan 기질용액을 원심분리 튜브에 넣고 30℃에서 5분간 유지하였으며 맥아추출물 역시 30℃에서 5분간 유지하여 두었다. 각각의 튜브 0.5 ㎖ Azo-Barley glucan 기질에 0.5 ㎖ 맥아추출물을 넣고 격렬하게 혼합한 후 30℃에서 맥아추출물을 넣는 순간부터 정확하게 10분동안 반응을 시켰다. 10분간의 반응 후 3.0 ㎖ Precipitant 용액을 넣고 튜브 내용물을 격렬하게 저어 주었으며 실온에서 5분간 방치해 두었다. 튜브를 원심분리(1000 g, 10분)한 다음 상징액의 흡광도를 590 nm에서 측정하였으며 증류수에 대한 reaction blank의 흡광도를 측정하였다. β-Glucanase의 활성은 U/kg 엿기름으로 계산되었으며 1 U는 30℃, pH 4.6에서 1분동안 glucose 환원당에 해당하는 1 micromole을 생성하는 효소의 활성으로 나타내었다. β-Glucanase의 분석절차에 대한 원리는 그림 3에 요약되어 있다(McCleary and Shameer 1987).

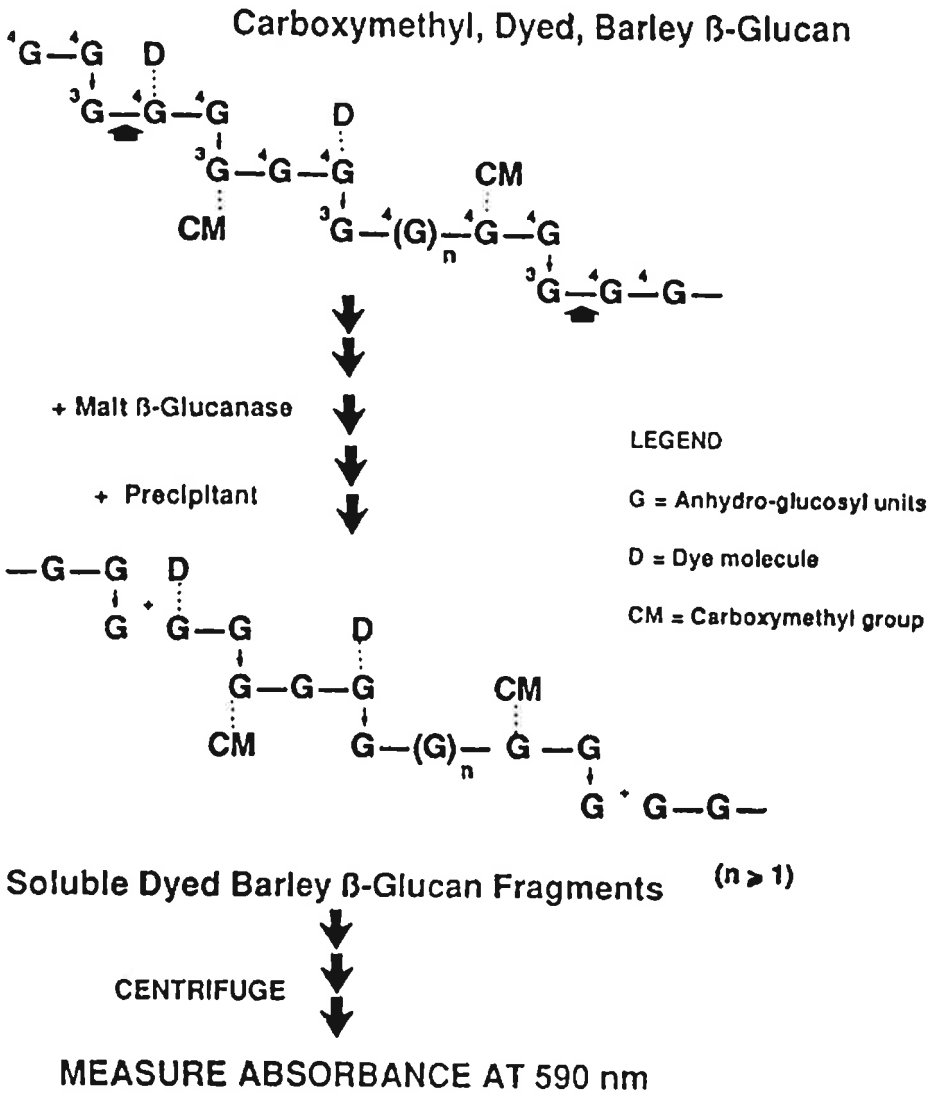

그림 3. 맥아 β-glucanase의 분석 절차

마. Amylograph **점도**

엿기름의 효소활성은 Brabender Amylograph(C.E. Brabender Instruments, Inc.)**를 이용하여 전분기질 점도 감소에 의해 측정하였다**. **즉 엿기름** 0.45 g**을 옥수수 전분** 45 g**과 함께 섞은후** 450 ㎖**의 증류수에 분산시켜 제조한** slurry**를** amylograph bowl**에 옮긴 후** 30℃**에서** 96℃**까지** 1.5℃/min**의 일정한 속도로 가열하여 온도를 증가시켰으며 최고점도**(peak viscosity)**를 측정하였다**. **이것을 전분만을 사용한 대조구의 최고점도로부터 빼서 이 차이를 전분기질 점도 감소로 산출하였다**.

바. Gel-Diffusion **분석**

당화 효소력가의 겔확산 분석은 Gothard **방법**[13]**을 수정하여 분석하였다**. 9 cm petri-dish**에 전분을 포함하는** agar plate**를 준비하고** agar**상에** 1.0 cm filter paper disc**를 놓고 일정량의 엿기름 추출물을 적용하여 반응시킨 후 전분기질의 분해에 따른 겔확산 정도인 겔확산 거리**(mm)**를 측정하였다**. **한편 발아하는 보리를 반으로 잘라** agar **표면에 직접 적용하여 대부분의 효소분석에서 시간이 소요되는 효소추출의 필요성을 없애도록 하였다**. **즉 발아하는 보리 곡립의 중앙을 칼로 반으로 나눈 후 곡립의 배아 반대쪽 반쪽을 자른 표면이** agar plate**에 접촉되도록 세웠다**. **효소반응 후 반쪽의 곡립을 핀셋으로 제거하고** agar **표면을** 10 ㎖**의 희석된 요오드 용액** (0.65 g **요오드** + 1.95 g **요오드 칼륨** / ℓ)**으로 염색하여** 20 30**분 동안에 청색을 발현시켰으며 여분의 요오드 용액은** agar **표면으로부터 세척하여 제거하였다**. **곡립이 놓였던 위치의 주위로 염색되지 않은 부분이나** halo**를 선명하게 볼 수 있었으며** halo **직경을 직각으로** 2**개의 수치를 읽어 겔확산 직경** (mm)**을 측정하였다**.

5. 엿기름의 사용방법 및 사용형태

가. 엿기름의 입도 분포

100 g의 엿기름 가루를 20, 40, 60, 100, 120, 140, 200, 270, 325mesh 표준체를 사용하여 Ro-Tap sieve shaker(W. S. Tyler Co. USA)에서 20분간 진탕한 후 각 mesh를 통과하는 엿기름 가루의 중량을 측정하였다.

나. 엿기름의 추출

엿기름의 추출조건을 검토하기 위하여 분쇄한 엿기름 시료 5 g을 200 ㎖ E-flask에 넣고 증류수 100 ㎖를 넣은 다음 마개로 막고 저어준 후 20℃, 30℃, 40℃로 유지된 항온수조에서 1 4시간 동안 추출하였다. 항온수조에서 추출하는 동안 20분 간격으로 플라스크를 매우 조심스럽게 돌려서 저어주었다. 추출조건별 엿기름 추출물의 당화력은 AACC방법6)에 의해 측정하였다.

다. 엿기름의 당화

엿기름의 당화에 의한 당함량을 분석하기 위해 식혜를 제조하였다. 식혜제조에 사용된 밥은 쌀을 1시간 침지한 다음 1.4배의 가수량으로 전기밥솥을 이용하여 취반한 후 20분 경과된 것을 사용하였다. 엿기름 추출물은 750 g 엿기름 가루에 물 1,500 ㎖를 부어 40℃에서 2시간 동안 효소를 추출한 후 여과하였다. 준비된 일정량의 밥을 용기에 담고 추출물 여액 1,000 ㎖를 넣고 잘 섞은 후 뚜껑을 덮고 60℃에서 당화시켰다. 당화과정중의 시간별로 당화액을 경시적으로 채취하여 식혜박을 분리한 여액을 실험용 당화액의 시료로 사용하였으며 시료액의 당도를 굴절당도계를 사용하여 측정하였다. 재료의 양에 따른 당화액의 특성을 조사하기 위하여 추출액 1000 ㎖에 밥의 양(100, 200, 300g)을 달리하여 당화를 진행하였다.

라. 엿기름의 포장 및 사용형태

엿기름의 사용을 간편화하기 위하여 엿기름을 tea-bag**에 넣고 추출한 후 추출액을 당화에 사용하였으며, 또한** tea-bag**을 사용하여 엿기름 효소의 추출 및 당화과정을 동시에 시도해 보도록 하였다.**

제 3 장 결과 및 고찰

제 1절 엿기름의 적정 제조공정 확립

1. 품종별 엿기름의 제조적성

보리의 품종별 엿기름 제조적성을 조사하기 위하여 16개의 선정된 보리시료를 사용하였다. 엿기름은 제맥기(Nordon Co., France)를 사용하여 제조조건이 자동으로 조절된 상태에서 제조하였는데 품종별로 정선된 보리 시료를 15℃ 침맥조(steeping cabinet)에 넣고 48시간 수침하여 16℃ 발아조(germination cabinet)내의 발아통에서 4일간 발아시킨 후 배조기(kilning cabinet)에서 45℃ 온도로 24시간 동안 건조하였다. 한편으로는 국내 대부분의 영세한 엿기름 생산업체의 현장조건을 고려하여 제맥기를 사용하지 않고 현장조건과 유사하게 제조를 시도하였다. 이때의 제조과정은 정선된 보리를 petri dish의 물에 충분히 적신 여과지 상에서 16℃로 조절한 발아상에 넣고 4일간 발아시킨 후 건조오븐을 사용하여 일정한 온도에서 건조하였다.

제맥기를 사용하여 제조한 엿기름이 발아속도가 빠르고 효소력가가 높게 나타나는 등 제조적성이 더 우수하였으며 일부 6조 겉보리 품종에서 효소력가가 높아 이를 엿기름 제조에 적합한 품종의 선발자료 근거로 활용하도록 하였다. 현장조건하에서 제조한 엿기름은 제조조건이 적절히 조절되지 않아 발아가 불균일하고 발아가 상대적으로 느리게 진행되는 등 엿기름의 제조조건 및 공정의 개선이 요구되며 엿기름의 적정 제조조건을 확립하기 위한 침맥, 발아, 건조조건을 검토한 연구결과를 현장에 적용함으로써 품질의 개선을 도모할 수 있는 것으로 사료되었다.

2. 엿기름의 제조조건 검토

가. 보리의 침맥

보리품종(16품종)을 16±1℃의 물에 24, 48, 72시간 침지하는 동안 수분흡수율을 측정한 결과는 표 1과 같다. 보리는 시료에 따라 수분흡수율이 다르기 때문에 물에 침지하는 시간이 다르다[14]. 침맥은 단순히 확산과정에 의한 수분의 흡수과정이며 수분흡수는 주로 곡립의 크기에 달려있어 풍만한 보리품종은 수분흡수율이 높고 덜 풍만한 품종은 수분흡수율이 조금 낮은 경향이었다. 보리는 품종에 따라 수분흡수율에 있어 약간의 차이가 있어 수침 24시간 후에 37.5 43.3%, 48시간 후에 41.8 49.3%, 72시간 후에 45.8 52.7%의 수분흡수율 분포를 주었다. 쌀보리 품종의 수분흡수율은 겉보리에 비해 높게 나타났다. 수분흡수율이 43.7%에 도달하는데 걸리는 시간을 침맥시간(steeping time)으로 나타내었을때 보리품종별 침맥시간은 42 48 시간으로 크게 차이가 없는 것으로 나타났다. 보리를 물에 침지하여 수분함량이 45%가 되는데 걸리는 시간은 25 46시간으로 다양하게 조사된 바 있다[15]. 엿기름 제조를 위한 보리시료의 침맥시간은 2일 정도인 것으로 판단되었다.

나. 발아조건에 따른 제맥적성

엿기름의 발아조건을 자세하게 검토하기 위해서 보리 품종들중 4품종(올보리, 동보리1호, 탑골보리, 진양보리)을 시료로 선정하였다. 엿기름은 제맥기(Nordon Co., France)를 사용하여 제조하였으며 보리를 17℃에서 48시간(수침:건침=2:1) 침맥하여 발아온도별(15, 18, 21℃), 발아기간별(3, 4, 5, 6일)로 발아조건을 달리하였으며 45℃에서 건조하여 엿기름으로 제조하였다. 제맥기를 사용하여 제조공정이 잘 조절된 조건하에서 만들어진 엿기름의 효소력가 및 품질특성을 분석하였으며 이를 엿기름가공업체 현장에서 엿기름을 제조할때 품질의 기준으로 제시

표 1. 보리의 품종별 수침중 수분흡수율 변화 및 침맥시간

품종	수분흡수율(%)			침맥시간* (시간)
	24 시간	48 시간	72 시간	
강보리	38.94	43.55	46.13	43
낙영보리	38.32	43.13	45.77	42
대진보리	39.69	44.72	48.25	44
밀양겉보리	40.09	43.93	46.43	43
새강보리	41.97	45.73	48.34	45
새알보리	40.90	45.00	48.06	45
새올보리	39.61	43.88	47.05	43
알보리	39.54	45.57	48.00	44
오월보리	39.36	43.37	46.90	43
올보리	37.50	41.81	45.95	42
진양보리	41.09	44.99	48.04	46
찰보리	40.42	45.10	49.10	45
큰알보리	40.86	44.88	47.90	44
탑골보리	40.15	46.01	49.49	45
긴쌀보리	41.61	46.63	50.34	46
새찰쌀보리	43.30	49.27	52.65	48
평균	40.21	44.85	48.03	44

* 수분함량이 43.7%에 도달하는데 걸리는 시간

해 줄 수 있는 기초자료로 활용하도록 하였다.

보리는 발아가 진행됨에 따라 제맥손실이 증가하였으며 품종에 따라 엿기름 품질에 다소간의 차이를 보여주었다(표 2). 발아일수에 따른 엿기름의 수분함량은 6.6 8.0%의 범위였다. 건조후 엿기름의 수율은 뿌리를 제거하기전에 발아 3

일에 약 96%에서 발아 5일에 91%로 감소하였으며 뿌리를 제거한 후의 엿기름은 발아 3일에 95%에서 발아 6일에 87%로 감소하였다. 제근후의 엿기름 수율로부터 제맥손실이 발아 3일에 약 5%에서 발아 5일이후에는 10% 이상으로 증가하였다. 한편 발아온도가 높아질수록 발아속도가 빠르게 진행되어 제맥후 손실이 증가하는 경향이었다. 발아온도에 따라 제조한 엿기름의 천립중을 측정한 결과는 표 3과 같다. 발아온도 15℃에서는 천립중이 높았으며 발아 18, 21℃에서는 발아속도가 빨라 엿기름의 천립중이 낮았다. 진양보리는 21℃가 18℃에서 보다 천립중이 낮은 반면 2조보리인 올보리, 탑골보리, 동보리1호 에서는 18℃에서 천립중이 낮은 경향을 보여 발아속도가 가장 빠른 것으로 판단되어졌다.

표 2. 보리의 발아과정중* 엿기름의 품질

발아일수 (일)	수분함량 (%)	엿기름 수율(%)		제맥후 손실 (%)
		제근전	제근후	
올보리				
3	6.61	96.20	95.30	4.70
4	7.19	94.97	93.35	6.65
5	8.03	93.07	89.10	10.90
6	7.17	91.17	88.88	11.12
동보리1호				
3	6.62	96.04	95.04	4.96
4	6.93	94.70	90.77	9.23
5	7.39	92.25	87.29	12.71
6	7.32	91.64	87.12	12.82

*15℃ 발아

표 3. 보리의 발아조건별 엿기름의 천립중 (g)

발아일수\	발아온도(℃)		
	15	18	21
진양보리			
0**일**	42.55		
3**일**	39.10	36.90	35.17
4**일**	38.02	35.82	34.98
5**일**	37.50	35.37	34.83
6**일**	37.45	35.67	33.48
올보리			
0	37.73		
3	34.45	30.75	30.05
4	33.20	30.35	29.25
5	33.05	27.30	28.80
6	32.20	27.70	28.10
탑골보리			
0	32.93		
3	30.73	28.80	27.70
4	29.88	27.08	26.00
5	28.93	26.78	26.93
6	29.63	25.45	26.05
동보리1**호**			
0	35.33		
3	34.18	31.53	29.70
4	32.20	27.58	28.15
5	31.58	28.63	28.40
6	31.35	26.45	27.28

다. 발아조건에 따른 엿기름의 효소활성

1) 발아와 관련한 효소

보리를 맥아로 제조하기 위하여 발아를 시키는 과정중에 전분질 배유가 가수분해되어 변형되는데 이는 보리의 호분층 세포에서 가수분해 효소들이 합성되어 호분층 세포벽으로부터 배유로 분비됨에 따른다. 이때 보리의 세포벽 분해가 전분의 분해에 앞서 진행되는데 발아중에 세포벽을 구성하고 있는 대표적인 구조적 다당류 물질인 β-glucan과 arabinoxylan을 분해시키는 β-glucanase와 xylanase와 같은 세포벽 분해효소의 작용이 일어나고 배유 전분질을 분해하는 효소인 α-amylase와 β-amylase의 작용이 계속적으로 진행된다. 발아하는 보리에 있어서 엿기름으로서의 품질특성중 특히 당화공정에서 전분의 당화에 관여하는 효소의 활성은 매우 중요하며, 따라서 발아조건에 따른 세포벽 및 전분분효소의 활성도 변화를 조사하여 엿기름의 당화력 향상을 위한 적정조건을 확립하고자 하였다.

전분은 당화공정에 있어 중요한 성분요소이며 적절한 전분분해 효소활성에 의해 당을 생성하게 된다. 맥아의 제조과정중에 배유 세포벽이 우선적으로 분해되어 전분알갱이가 노출되며 이때 세포벽의 주요 구성성분인 β-glucan을 분해하는데는 endo-β-(1→3)-glucanase, endo-β-(1→4)-glucanase와 endo-(1→3),(1→4)-β-D-glucanase가 작용을 한다. Endo-β-(1→4)-glucanase(cellulase)는 cellulose를 분해하는 역할이 있는데 보리의 껍질(husk)에 한정되어 있으며 대부분의 활성이 보리에 오염되어 있는 미생물 때문인 것으로 보고되었다. Endo-β-(1→3)-glucanase는 β-glucan에는 활성이 없고 제맥초기에 가용화되는 β-glucan의 가수분해에 관여하는 역할이 있으며 호분층 바로 밑층의 세포를 가수분해하는데 기여한다고 보고되었다.

(1→3)-와 (1→4)-결합을 함께 가지고 있는 mixed-linked β-glucan을 분해하

는 유일한 glucanase는 endo-(1→3),(1→4)-β-D-glucanase이다. 보리 β-glucanase는 두가지의 isoenzyme이 존재하는데 분자량과 등전점이 각각 27 kD과 33 kD, 8.5와 10.8인 것으로 나타났다. Isoenzyme에 의해 한정적으로 분해된 배유 세포벽은 glucose와 oligosaccharide를 생성하는데 glucose의 생성은 세포벽에 β-glucosidase가 연관되어 있기 때문인 것으로 제시되었다. 전자현미경에 의하여 분해된 배유 세포벽을 관찰한 결과 효소들이 확연히 세포벽의 내부표면을 분해시킨 것으로 관찰되었다. β-Glucanase는 원맥이나 침맥보리에 존재하지 않고 발아과정중에 발달하는데 gibberellic acid가 효소의 생성율에 큰 효과를 가지고 있으며 열에 민감하여 맥아를 건조하기 위한 배조과정중에 많이 소멸된다.

발아하는 곡립내의 β-glucanase 활성은 보리의 품종 및 재배지역에 따라 크게 영향을 받으며[16] 맥아의 변형정도 및 맥즙 β-glucan 함량은 β-glucanase의 활성에 의해 평가되어질 수 있다. 맥주제조시에 제맥적성은 맥아의 낮은 β-glucan 함량과 관련이 있으며 이는 미발아 보리의 초기 β-glucan 함량과 발아중에 β-glucanase의 생성에 달려있어 이 효소의 생성 능력은 보리의 제맥 품질에 중요하다고 하였다.

보리 맥아는 또한 esterase와 carboxypeptidase 활성을 가지고 있는 것으로 연구되었다. 한편 β-glucan solubilase는 endo-glucanase 활성이 없지만 β-glucan solubilase 없이는 세포벽으로부터 β-glucan이 추출되어 나올수 없고 열에는 상대적으로 안정적인 것으로 보고되었다[14]. β-glucan solubilase 활성은 단지 보리의 껍질과 연관되어 있으며 대부분이 미생물에 의한 오염 때문인 것으로 보고되었다[18].

보리의 호분층 세포벽은 약 85%의 arabinoxylan을 포함하는데 이는 β-(1→4)-xylose backbone으로 되어있으며 xylose residue의 2, 3번째에 arabinofuranosyl group들이 대체되어 있다[19]. 호분층 세포벽은 또한 약간의

cellulose(8%)와 단백질(6%)을 포함하고 있으며 밀에서 규명된 바와 같이 전분질 배유 세포벽과 유사하다[20].

여러 효소가 세포벽의 arabinoxylan의 분해에 관여하는데 발아하는 종실에 존재하는 이러한 효소들의 활성은 호분층에 있은 gibberellic acid와 ethylene에 의해 증진된다[21]. 호분층 세포가 GA3와 배양될때 세포내의 arabinoxylan은 xylose와 arabinose로 분해되며 free sugar와 oligosaccharide를 생성하였다. Xylose는 총 5탄당의 60%, arabinose는 40%인 것으로 나타났으며 또한 많은 양의 free sugar, glucose, fructose를 포함하였다. 이는 호분층 세포로부터 GA3에 sucrose의 생성이 증진된 결과로 알 수 있었으며 세포벽의 분해가 일어나는 60시간의 배양중에 세포벽을 구성하는 pentose의 2/3가량이 손실되는 결과를 초래하였다.

Arabinoxylan 분해효소들에는 endo-xylanase, arabinosidase, 그리고 xylosidase 등이 있으며 GA3에 반응하여 총활성도가 증가하는데 이들중 endo-xylanase만이 intact polymer를 분해시킬 수 있는 것으로 여겨진다. Xylan의 분해산물은 D-oligoxyloses이거나 D-xylose와 D-oligoxylose이다. In vitro arabinoxylan 효소분해에 의하면 endoxylanase에 의한 분해에 의해 생성된 oligosaccharide를 glycosidase에 의해 단당류로 생성할 수 있는 것이 제시되었다. 호분층 세포벽 분해는 GA3 반응 후 14 16 시간에 발생하지만 endoxylanase의 분비는 20 24시간 후에 나타났으며[20] 이는 endoxylanase 이외의 효소가 초기 세포벽 분해에 관여할 수 있다는 것을 암시해 주었다. Endoxylanase 활성은 세포벽에 위치하고 있을 수 있으며 그밖의 acid phosphatase, peroxidase와 esterase 모두 GA3에 의존적으로 분비되는데 이러한 효소들의 분비는 세포벽의 붕괴에 의해 용이해진다. 만일 endoxylanase가 세포벽과 효소-기질 복합체를 형성한다면 이는 지연된 분비 형태를 설명할 수 있는 것으로 나타났다. 호분층이 가장 심하게 붕괴되는 것은 발아 9 13 경에 발생하였다.

보리 호분층 xylanase의 분자량, 등전점, 적정 pH는 fungal xylanase와 비슷하

다[22,23]. 적정 pH는 5.5이고 겔여과에 의해 결정된 분자량은 29 kD인 것으로 연구되었다[20]. Endoxylanase는 glycoprotein이 아닌 것으로 관찰되었으며 sulfhydryl 저해제인 potassium bromate, Hg, Cu에 의해 저해되는 것으로 보고되었다. 이는 xylanase가 catalytic activity나 conformation을 위해 thiol group을 요구하는 것을 암시해 주었다.

보리의 pentosan 함량에 품종적, 환경적 변이가 있는 것으로 보고되었다. Arabinose, xylose, 총 pentosan 함량, arabinose:xylose, pentosan:β-glucan 비는 환경 및 유전적인 영향을 받았다[24]. 보리 품종들의 pentosan 함량은 4.4% 7.8% 였으며 β-glucan 함량은 3.4 5.7% 분포였다. Pentosan, β-glucan 함량과 제맥특성 사이에 상관관계가 보고되었다. 2조보리와 6조보리 사이의 차이가 보고된 바 있으며[25] 6조보리의 pentosan 함량은 2조보리에 비해 높았다. Xylanase 합성과 regulation에 관한 기작은 잘 알려져 있지 않지만 gibberellic acid와 Ca이 xylanase의 합성을 조정하는 모델이 제시되었다[26].

보리의 제맥과정에서 또하나의 주요한 과정은 α-amylase의 "De novo" 합성이다. GA3에 6 8시간 노출된 후에 호분층 세포벽에서 α-amylase가 생성되었으며 이 호르몬은 α-amylase가 형성되고 효소가 배유에 분비되는 동안 지속적으로 요구되었다[27]. Gibberellic acid는 α-amylase와 그밖의 polypeptide를 생성하기 위한 전체적인 단백질 합성을 재조정하며 α-amylase를 encoding하는 gene의 transcription을 자극하는 것으로 연구되었다[28]. 이러한 자극은 식물 호르몬인 abscissic acid(ABA)에 의해 차단될 수 있으며 이것이 transcription이나 translation중 어느단계에 발생하는 지는 아직 알려지지 않았다.

α-Amylase는 α-amylase 1과 α-amylase 2, 두개의 면역학적으로 차이가 있는 isoenzyme으로 나타나는데 두효소 모두 41,500의 분자량을 가지고 있다. 두가지 isoenzyme이 종실의 발달중에 합성되는데 특히 α-amylase 1은 발아에 의해 특정적으로 연관되어 있고 전분 알갱이를 가수분해하는데 더 효율적이다.

이들 isoenzyme은 다른 chromosome에 위치한 두개의 gene의 산물이며 α-amylase cDNA의 nucleotide sequence를 분석하여 isoenzyme의 1차구조를 나타낸 바 있다[28].

α-Amylase는 전분의 α-(1→4)-glucosidic linkage를 가수분해하는 endo-enzyme이며 Ca의 존재는 α-amylase의 구조를 안정화시킨다[26]. α-Amylase는 배유의 변형에 큰 역할을 하지 않으며 이따금 부분적인 분해와 전분의 pitting이 보고된 바 있으나 전분분해 정도는 대체로 미미한 편이다. 한편 α-amylase는 발효전당의 생성과 관련이 있는 당화공정에 관여하는 것으로 중요하다[23].

2) Diastatic Power

발아조건별로 제조한 엿기름에 대해 전분의 분해에 따른 환원력을 측정하여 나타낸 엿기름의 당화력(DP)은 표 4와 같다. 발아 3 6일 사이에 엿기름의 DP는 진양보리에서 64 96。L의 범위였는데 비해 올보리가 92 180。L의 범위에서 증가하여 진양보리에 비해 1.4 1.9배 정도 당화력이 높았다. 15℃의 발아조건에서 진양보리는 64。L에서 93。L으로 지속적으로 증가하였으며 18℃에서는 발아초기에 급격히 증가하여 발아 3일에 86。L이었고 발아 4일, 5일, 6일에 각각 93, 96, 91。L로 별 차이가 없었다. 21℃에서도 18℃와 유사하게 증가하여 발아 3일에 86。L에 도달하였으며 발아 4일 이후에는 91 93。L으로 거의 변화가 없었다. 15℃의 발아온도는 초기에 당화력이 낮았지만 지속적으로 증가하여 발아 6일에는 다른 발아온도와 유사하였으며 18℃와 21℃ 발아조건에서는 별 차이가 없이 유사한 당화력을 가지는 것으로 나타났다(그림 4).

올보리의 경우에도 15℃의 발아 3 6일에 DP가 92。L에서 151。L로 지속적으로 증가하였다. 18℃ 발아에서는 발아 3일, 4일에 138, 175。L로 현저히 증가하였으며 그 이후에는 거의 변화가 없었다. 21℃에서는 발아 3일, 4일에 144, 166

。L로 증가하였고 그 이후는 18℃와 같이 별 변화가 없었다. 올보리의 당화력은 15℃에 비해 18℃와 21℃에서 높게 나타났을 뿐 만 아니라 그 차이가 진양보리에서 보다 큰 것으로 분석되었다. 6조 겉보리인 올보리가 2조 겉보리인 진양보리에 비해 최대 당화력이 높고 발아에 따른 당화력의 증가속도가 빠른 것으로 나타났다 (그림 5). 또한 탑골보리와 동보리1호의 발아조건별 당화력의 변화에서도 발아에 따른 당화력의 증가속도가 올보리와 유사하게 진행되는 것으로 조사되었다. 엿기름으로서 6조보리는 18℃, 21℃에서 발아시 당화력이 양호하였고 발아 5 6일경에는 당화력이 더 이상 증가하지 않았으며 엿기름의 품질면에서 18℃에서 5일간 발아가 당화용 엿기름 제조의 발아조건으로서 가장 적합한 것으로 판단되었다.

표 4. 발아조건별 보리의 Diastatic Power (DP)

발아일수\	발아온도(℃)		
	15	18	21
진양보리			
0**일**			
3**일**	63.98	86.09	87.12
4**일**	82.95	93.96	90.84
5**일**	87.67	95.81	93.12
6**일**	92.78	91.22	92.76
올보리			
0			
3	91.62	138.06	144.18
4	123.66	174.60	165.78
5	144.36	176.40	164.52
6	151.20	179.46	168.12
탑골보리			
0			
3	68.76	142.56	145.08
4	115.20	160.56	163.80
5	129.60	169.20	180.00
6	148.68	182.16	185.48
동보리1**호**			
0			
3	75.64	127.08	149.40
4	97.02	154.98	173.16
5	128.11	150.12	168.56
6	133.45	165.42	158.40

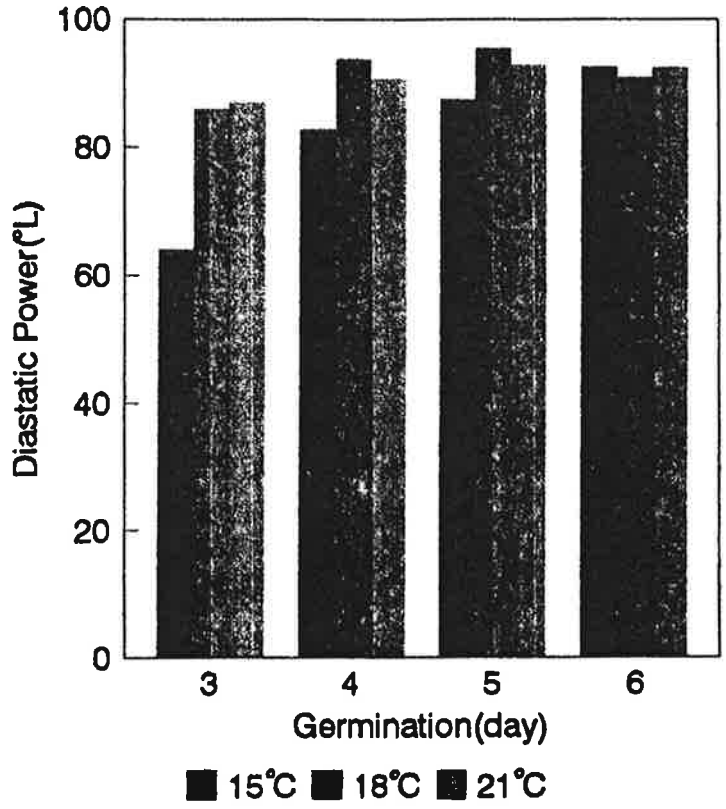

그림 4. 발아조건에 따른 보리의 Diastatic Power 변화(진양보리)

자료출처 : 당화용 엿기름의 효소력가 증진 및 품질기준설정에 관한 연구 / 농림부

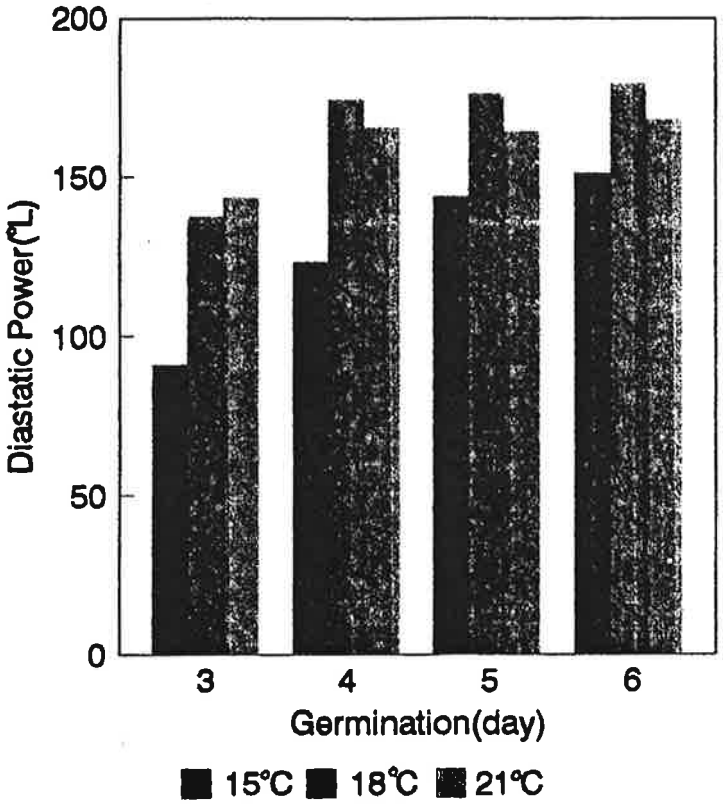

그림 5. 발아조건에 따른 보리의 Diastatic Power 변화(올보리)

자료출처 : 당화용 엿기름의 효소력가 증진 및 품질기준설정에 관한 연구 / 농림부

3) α-Amylase 활성

발아조건에 따른 보리의 α-amylase 활성변화를 나타낸 결과는 그림 6, 7에 나타나 있다. 발아전의 보리곡립에는 α-amylase의 활성이 거의 없으나 발아가 진행됨에 따라 증가하는 추세를 나타냈는데 15℃ 발아조건에서 효소활성이 가장 낮았으며 18℃에서 가장 높았고 21℃에서는 다소 떨어지는 경향을 보여주었다. 15℃의 발아온도에서 진양보리의 α-amylase 활성은 발아초기에 상대적으로 낮았으나 6일간 발아가 진행됨에 따라 지속적인 증가를 하였다. 18℃의 발아온도에서 발아초기에 가장 빠르게 효소가 합성되어 발아 4일까지 급격하게 증가하였으며 발아 5일 이후에는 약간 감소하였다. 21℃의 발아온도는 18℃에 비해 발아 5일까지 효소활성이 떨어졌으나 비슷한 증가추세를 나타내었고 발아 5일 이후에는 18℃와 비슷한 수치를 주었다(그림 6).

6조 보리인 올보리는 진양보리에 비해 발아중 합성되는 효소의 활성도가 훨씬 높았다. 15℃에서는 효소활성이 18℃, 21℃에 비해 낮았지만 지속적으로 증가하는 추세였으며 18℃와 21℃에서는 발아 3, 4일까지 급속히 증가하였고 이후 약간 둔화된 후 다시 증가하였다. 18℃, 21℃에서 4 6일간 발아시켰을때 올보리는 진양보리에 비해 효소활성이 2배 정도 높은 수치를 주었다(그림 7).

김 등[29]은 α-amylase 활성이 18℃에서 발아일수가 경과함에 따라 발아 3일에서 급격한 증가를 나타내었으며 5일까지는 계속 증가하다가 그 이후부터는 점차 감소한 다고 하여 본 연구결과와 비슷하게 보고한 바 있다. 한편 발아중 적색광의 처리에 의해서 발아일수별 α-amylase의 활성변화는 음소와 비슷한 증가현상을 나타냈으나 활성이 더 높은 경향이 있는 것으로 보고하였다[29].

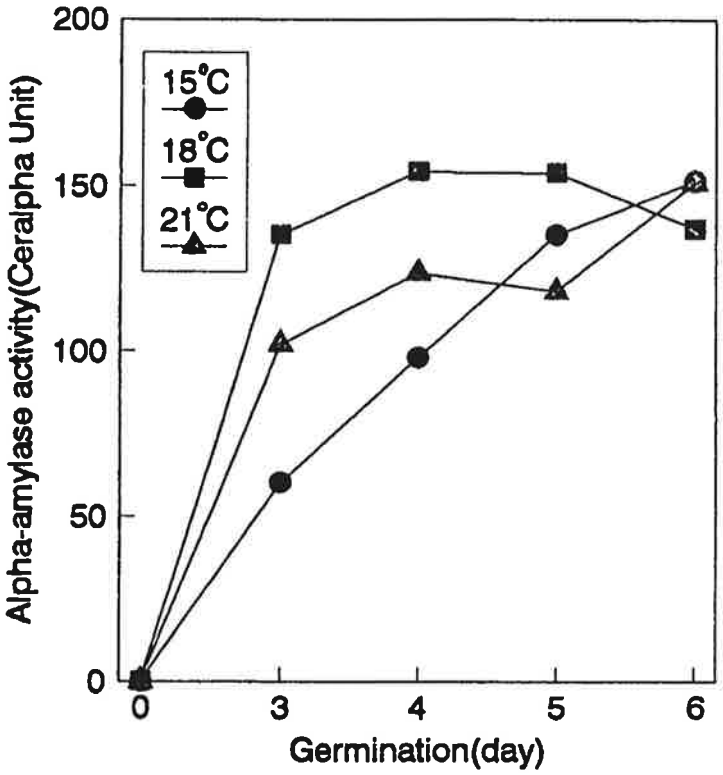

그림 6. 발아조건에 따른 보리의 α-amylase 활성 변화(진양보리)

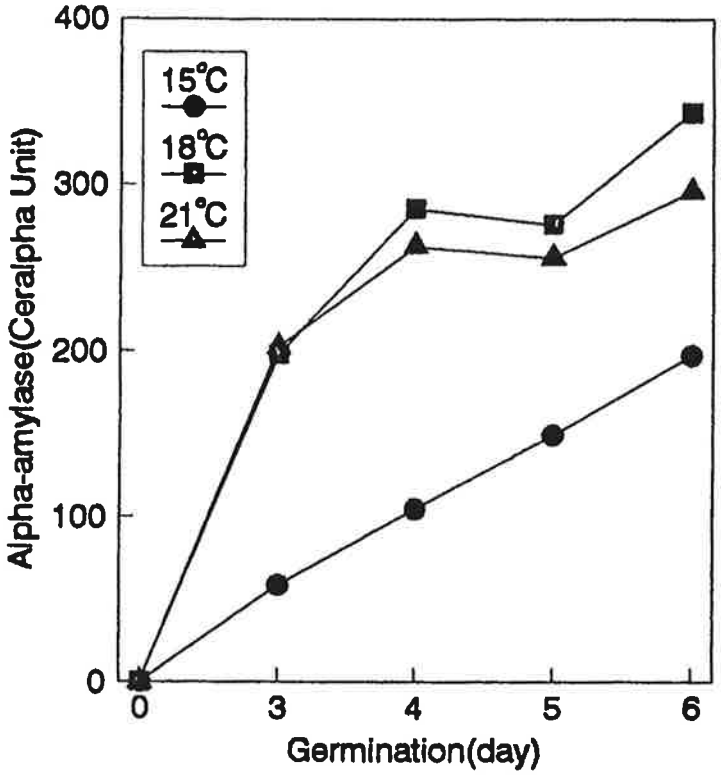

그림 7. 발아조건에 따른 보리의 α-amylase 활성 변화(올보리)

4) β-Amylase 활성

β-amylase는 전분을 발효전당으로 분해하는 역할을 하는데 미발아 곡립에서 β-amylase는 amylolytic 활성에 주요한 역할을 한다. β-amylase는 초기 원맥에서 상당한 활성이 있어 진양보리가 437 Betamyl unit, 올보리가 512 Betamyl unit의 효소활성을 지니고 있었으며 발아가 진행됨에 따라 증가하는 추세를 보여주었다. 15℃에서 발아시 발아가 진행됨에 따라(3 6일) 진양보리는 645 771 Betamyl unit으로 증가하였으며 올보리는 859 1131 Betamyl unit으로 증가하여 원맥의 1.7 2.2배 정도의 다소 완만한 상승세를 보여주었다(그림 8). 진양보리는 발아온도 18℃와 21℃에서 발아 4일까지 효소활성이 약 820 Betamyl unit까지 증가하였고 그 이후에는 다소 증감이 있으나 크게 변화하지 않았다. 올보리는 18℃와 21℃에서 발아 5일경에 각각 1356, 1435 Betamyl unit까지 증가하였으며 그이후에도 약간의 증감이 있었다(그림 9). β-amylase 활성은 온도에 따라 차이가 있었지만 18 21℃에서는 발아 4 6일 사이에서 높은 활성을 가지는 것으로 나타났다.

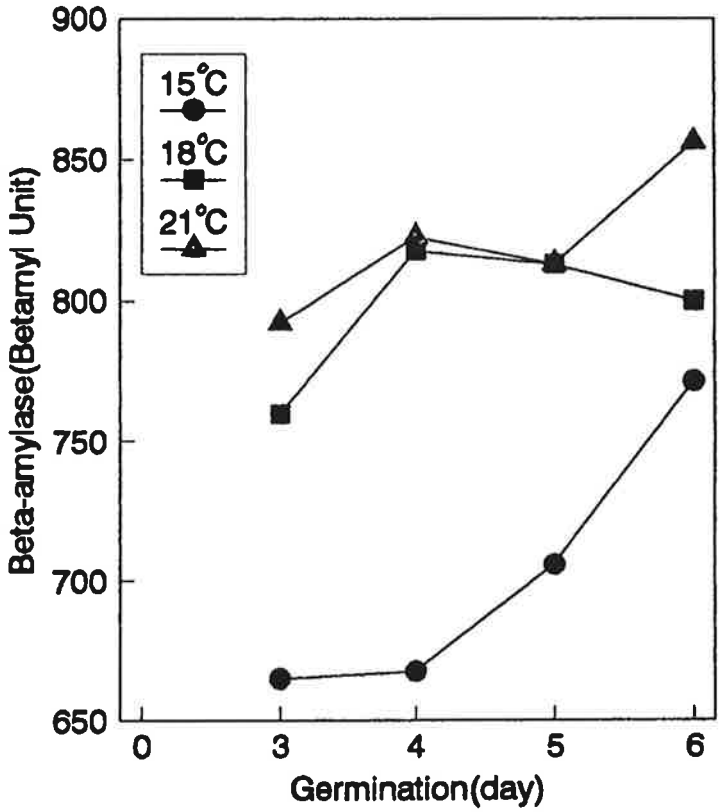

그림 8. 발아조건에 따른 보리의 β-amylase 활성 변화(진양보리)

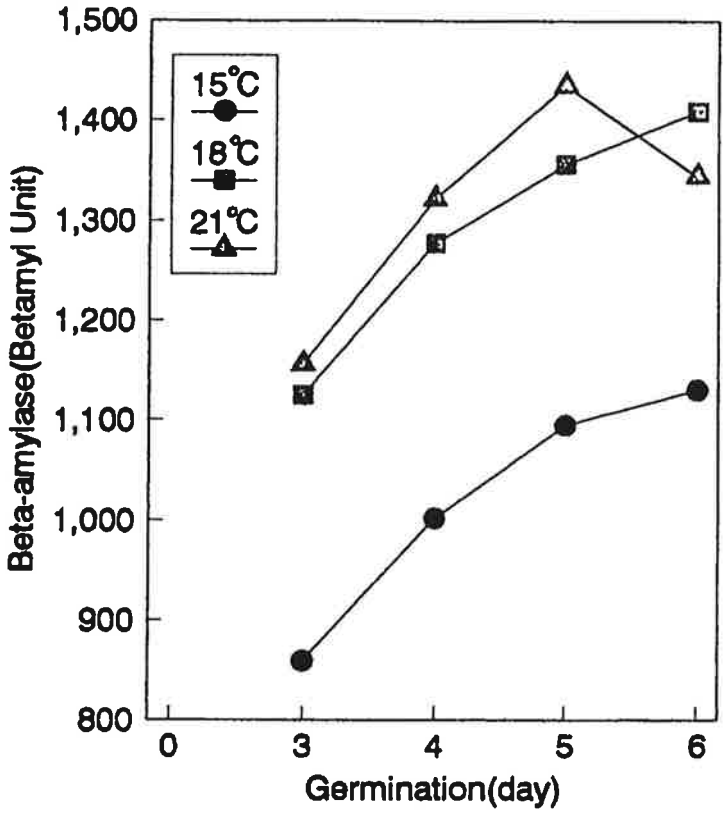

그림 9. 발아조건에 따른 보리의 β-amylase 활성 변화(올보리)

5) β-Glucanase 활성

보리는 발아가 진행됨에 따라 β-glucanase의 합성에 의한 활성도가 증가하였는데 발아온도에 따른 증가양상에 다소 차이가 있었다. 진양보리는 15℃에서 발아 3일에 활성도가 187로 낮았으나 발아 5일까지 현저한 증가추세를 보여 발아 5, 6일에 410까지 증가하였다. 18℃의 발아조건은 효소의 합성이 가장 빠르게 진행되어 발아 3일에 398로 급격하게 증가하였으며 그 이후에는 매우 미미한 증가가 있었다. 21℃의 발아조건에서는 18℃에 비해 전체적으로 약간 낮았지만 발아 3일에 358로 현저히 증가한 후로 완만한 상승세를 보여주었다. 각 발아온도별 발아 6일경에는 효소활성에 별 차이가 없고 상승세가 둔화되거나 미미하여 효소의 활성이 거의 최고에 도달한 것으로 판단되었다.

올보리의 β-glucanase 활성은 진양보리와 마찬가지로 발아가 진행됨에 따라 증가하였을 뿐 만 아니라 발아 6일에도 지속적인 증가세를 보여 최고 활성이 높은 것으로 나타났다(그림 11). 15℃에서는 발아 3일에 255에서 발아 6일에 638로 지속적인 증가를 하였으며 18℃에서도 발아 3일에 543에서 발아 6일에 728로 증가하였다. 발아 21℃에서의 효소활성은 발아 18℃보다 약간 높았으며 발아 6일에 838까지 증가하였다.

보리 β-glucanase의 활성에 관한 연구로 보리 β-glucan endohydrolase 활성은 호분층과 배유에 밀집되어 있었으며 약간의 활성이 껍질, 배아(embryo)와 scutellum에 존재하였다[30]고 하였다. β-Glucanase의 활성은 품종 및 제맥조건에 따라 발아 5일이나 그이후에서 최고 활성을 나타내는 것으로 조사되었고[31] 김 등[32] 역시 제맥초기에 그 활성이 약하나 제맥 2일째부터 증가하여 6일 이후 최고 수준에 도달하였다고 하여 본 실험과 유사하게 나타났다.

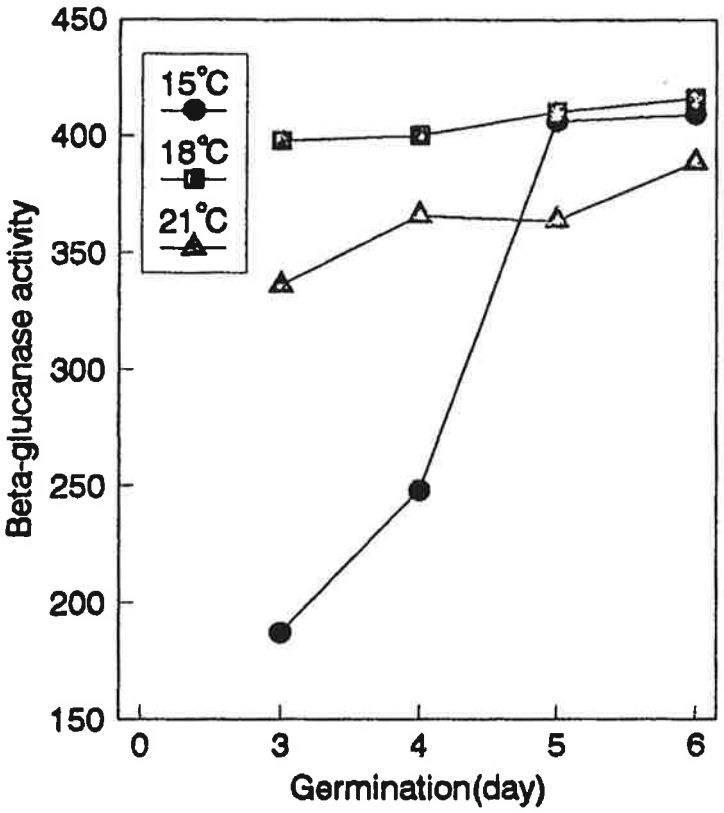

그림 10. 발아조건에 따른 보리의 β-glucanase 활성 변화(진양보리)

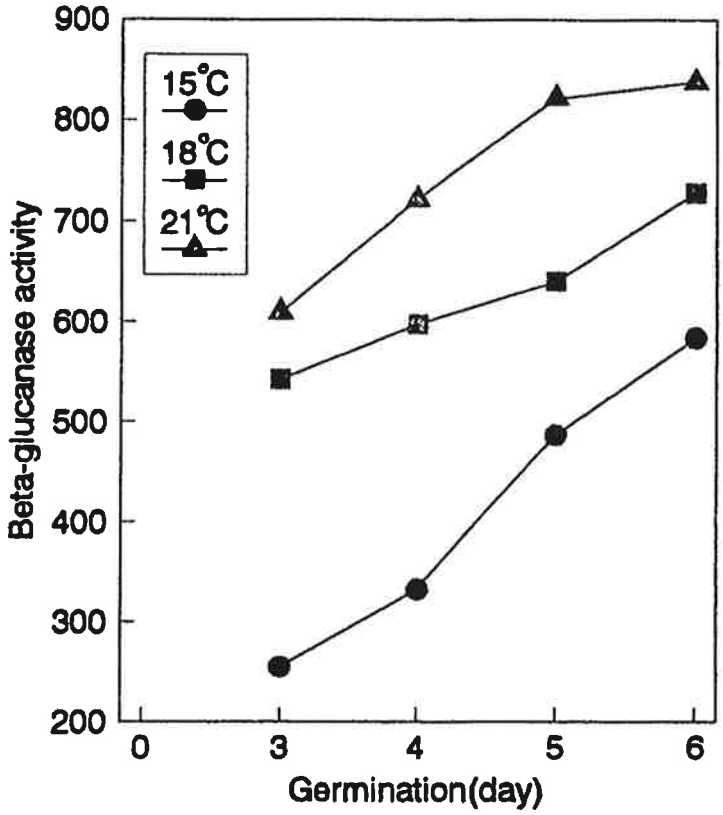

그림 11. 발아조건에 따른 보리의 β-glucanase 활성 변화(올보리)

한편 발아일수에 따른 올보리의 β-glucan 함량변화를 측정한 결과는 표 5와 같다. 원료보리의 β-glucan은 5.10%였으며 발아중에 β-glucan 함량은 지속적으로 감소하였는데 15℃, 18℃, 21℃ 순으로 감소가 많이 되었다. 15℃에서는 발아 3 6일에 3.3→1.3%로 감소하였으며 18℃와 21℃에서는 각각 1.5→0.3%, 1.0→0.2%로 감소하여 발아조건에 따라 엿기름의 β-glucan의 함량에 차이가 있었다. β-Glucan의 감소는 발아중 합성되어 생성된 β-glucanase의 활성과 관련이 있으며 발아 6일 후에는 대부분의 β-glucan이 β-glucanase에 의해 분해된 것으로 나타났다. 이는 맥아의 β-glucan 함량은 β-glucanase 활성과 고도의 부의 상관관계를 갖는다고 보고[32]한 결과와 일치하였다. 제맥과정중에 β-glucan 함량은 약 4.0%에서 약 0.5% 이하로 떨어지게 되며[17] 원맥의 약 3.54%에서 맥아의 0.75%로 감소한다고 보고[33]된 바 있다.

맥아에 남아있는 β-glucan의 분자량은 여전히 높으며 단백질에 결합되어 있는 β-glucan은 불용성이고 맥즙의 점도, 맥주 여과, haze의 문제를 야기하지 않지만 제맥과 맥즙의 분리에 문제를 일으킨다. 맥아 β-glucan 함량은 맥아품질을 결정하는 정확한 평가가 될 수 있으며 보리 β-glucan 함량은 제맥에 적합하지 않은 지표로 작용하는 것으로 알려져 있다.

표 5. 발아조건에 따른 보리*의 β-glucan 함량(%) 변화

발아일수\	발아온도(℃)		
	15	18	21
원맥	5.10	5.10	5.10
3일	3.30	1.49	0.96
4일	2.14	0.62	0.36
5일	1.66	0.37	0.30
6일	1.27	0.31	0.22

*올보리

라. 엿기름의 건조

건조온도에 따른 엿기름의 효소력가(DP)는 40 50℃의 열풍건조기에서 건조하였을때 가장 양호하였으며 60℃이상의 건조온도에서는 효소활성도가 떨어지는 것으로 나타났다.

표 6. 건조온도에 따른 엿기름의 효소력가(DP)

	건조온도(℃)				
	30	40	50	60	70
DP(。L)	125	123	121	108	96

국내 엿기름 제조기술현황 및 문제점을 조사한 바에 의하면 현재 많은 영세한 생산업체에서 생산되고 있는 엿기름의 제조가 우리나라 기후조건으로 보아 계절별 발아온도 조절에 어려움이 있고 건조조건 역시 적절히 조절되고 있지 못한 실정이어서 현장의 엿기름 제조공정 및 품질관리상의 문제점을 해결하기 위한 엿기름 제조조건의 면밀한 검토, 개선이 필요한 것으로 제시되었다. 엿기름의 적정 제조조건을 확립하기 위하여 침맥, 발아, 건조조건을 검토한 결과 침맥은 2일, 발아는 18℃에서 5일, 건조는 40 50℃에서 제조하는 것이 효소력가 및 품질에 있어서 가장 적합한 것으로 연구되었다.

마. 엿기름의 효소력가 향상

보리의 침지과정중 생장조절제인 Gibberellic acid의 첨가에 따른 엿기름의 효소력가를 측정한 결과는 표 7과 같다. GA3를 첨가한 처리구가 무처리구에 비해 DP 수치가 약간 증가하는 경향이 있었는데 많게는 약 20% 정도의 증가를 보여주었다. 침맥시 원맥에 GA3를 적량 처리함으로써 효소력가를 1.3 1.4배 까지도 향상시킬 수 있는 것으로 보고한[31]바와 같이 본 시험에서도 침맥시 원맥에 GA3를 1.5 ppm 적량 처리함으로써 효소력가를 다소 증진시킬 수 있는 것으로 확인되었다. α-Amylase의 경우 GA3 농도가 증가함에 따라(0.5 1.5 ppm) 15 40% 가량 효소활성도가 증가하였으며 당화효소력가는 5 30% 정도 증가한 것으로 조사되었다. 또한 오등은 α-amylase의 활성이 25%까지 증가하였으나 β-amylase는 10% 이내의 미미한 증가를 나타내 GA는 α-amylase의 합성에 주로 관여하여 작용하는 것으로 확인된 바 있다.

표 7. 침맥과정중 GA3 처리에 따른 발아중 엿기름의 효소력가(DP)

	발아일수(일)				
	0일	2일	4일	6일	8일
무처리구	112	117	139	188	220
GA3(1.5 ppm)	110	134	170	208	225

제 2절 엿기름의 품질기준 설정

1. 보리의 품질평가

가. 보리의 물리적 품질특성

품종별 보리원맥의 용적중, 천립중(1,000 KW), 곡립의 크기 혹은 풍만도(kernel plumpness), 곡립의 색도(kernel color), 파쇄립(broken kernel), 피해립(damaged kernel) 등 물리적 품질특성을 분석한 결과는 표 8 10에 나타나 있다. 보리 품종들의 평균 용적중은 748g/ℓ였으며 6조보리 품종들은 694 764 g/ℓ의 분포로 2조보리인 진양보리의 769 g/ℓ에 비해 낮았고 쌀보리 품종이 793 g/ℓ로 가장 높게 나타났다(표 8).

천립중은 엿기름 제조를 위한 보리의 물리적 품질특성에 있어 용적중과 곡립의 크기에 따른 정립율(kernel assortment rate)과 함께 비교 평가할 수 있는 중요한 측정이다. 보리품종의 천립중은 22.2 g에서 38.0 g의 분포로 평균 28.03 g이었고 맥주맥인 진양보리가 37.95 g으로 가장 높은 수치를 나타내었다. 보리의 천립중은 한국산 맥주맥이 35.3 46.3 g이었고 미국산 맥주맥은 43.0 g이었으며, 국내산 6조 겉보리에서는 평균 27 28 g으로 분석된 결과(15,35)와 유사하였다

보리곡립을 Barley Sieving Grader로 체질하여 분리한 곡립의 크기는 표 9에 나타나 있다. 체질에 의한 곡립의 풍만도는 2.5 mm체에 남아있는 보리곡립을 풍만한 곡립(plump kernel)으로 간주했을 때 풍만도(% plumpness)를 전체 곡립에 대한 풍만한 곡립의 백분율로 계산하였으며 품종에 따라 풍만도에 있어 5.3 75.9%로 큰 차이를 보여주었다. 실험에 사용한 유일한 2조보리인 진양보리의 풍만도가 가장 높았는데 이는 단순히 2조보리의 특성상 풍만한 중앙에 위치한 곡립(central kernel)만으로 구성되어 있기 때문이다. 6조보리에서는 낙영보리, 올보리, 큰알보리가 상대적으로 높은 반면 대진보리, 새강보리, 탑골보리 등에서 낮

았으며 쌀보리 품종 역시 상대적으로 낮은 수치를 나타냈다. 보리의 풍만도는 수분흡수율, 배유의 변형, 효소활성도, 배조시 색의 변화, 맥주제조시 맥즙의 수율 등에 영향을 미칠 수 있다.

표 8. 엿기름 제조를 위한 품종별 보리원맥의 품질

품종	수분 (%)	용적중 (g/ℓ)	천립중 (g)	단백질 (%)
강보리	10.26	764	27.68	17.04
낙영보리	10.17	694	30.22	11.69
대진보리	9.95	724	26.88	13.97
밀양겉보리	10.79	754	27.48	14.27
새강보리	9.73	712	25.83	15.55
새알보리	10.41	753	26.25	13.38
새올보리	10.22	740	27.25	17.47
알보리	10.41	738	30.42	13.91
오월보리	10.85	748	29.32	15.32
올보리	10.53	762	28.40	17.54
진양보리	11.10	769	37.95	14.43
찰보리	9.79	739	24.82	17.39
큰알보리	10.75	761	31.34	14.15
탑골보리	10.06	716	22.24	15.90
긴쌀보리	11.34	797	25.39	15.70
새찰쌀보리	9.90	789	27.03	17.33
평균	10.39	748	28.03	15.31

표 9. 품종별 보리곡립의 크기 및 발아율

품종	곡립의 크기(mm)						발아율
	2.8	2.5	2.2	2.0	< 2.0	%plump	(%)
강보리	1.1	15.4	63.9	15.0	4.6	16.5	97
낙영보리	6.8	34.8	39.9	12.3	6.2	41.6	93
대진보리	0.6	5.9	45.8	25.3	22.4	6.5	95
밀양겉보리	1.0	16.9	50.1	20.1	11.9	17.9	95
새강보리	2.3	7.6	35.1	32.8	22.2	9.9	98
새알보리	1.9	17.8	49.4	19.3	11.6	19.7	95
새올보리	1.8	13.3	46.6	23.6	14.7	15.1	95
알보리	4.5	25.7	47.5	16.1	6.2	30.2	98
오월보리	3.6	26.4	42.5	15.7	11.8	30.0	98
올보리	6.7	30.7	39.8	12.7	10.1	37.4	91
진양보리	32.4	43.5	19.2	3.6	1.3	75.9	97
찰보리	3.0	11.7	48.3	27.3	9.7	14.7	99
큰알보리	1.9	28.2	53.5	11.9	4.5	30.1	94
탑골보리	1.4	8.2	33.9	31.3	25.2	9.6	100
긴쌀보리	0.8	4.5	27.5	28.0	39.2	5.3	90
새찰쌀보리	2.2	12.1	53.2	22.4	10.1	14.3	94

보리 곡립의 크기분포(kernel size distribution)나 풍만도를 대체할 수 있는 간단하고도 유용한 측정방법으로 천립중을 측정할 수 있다. 대체적으로 곡립의 크기분포는 천립중과 정의 상관관계가 있다. 그러나 곡립의 크기가 천립중과 항상 상관관계가 있는 것은 아니며 이는 곡립의 비중에 차이가 있기 때문인 것으로 판단되었다. 본 실험 결과에서 확인된 바와 같이 일반적으로 보리의 천립중이 높으면 풍만도가 높은 경향으로 나타났다. 보리의 천립중은 정립율(kernel assortment rate), 즉 곡립의 풍만도(% plumpness)와 서로 높은 상관관계(r = 0.96)를 보여주었다.

보리 곡립의 표면색도를 색차계를 사용하여 측정한 결과는 표 10에 나타나 있다. L값은 색의 밝기를 a값은 (+)일 경우 적색도(redness), (-)일 경우 녹색도(greenness)를 나타내며, b값은 (+)일 경우 황색도(yellowness), (-)일 경우 청색도(blueness)를 나타낸다. 일반적으로 완숙된 보리는 밝고 옅은 황색을 나타내는 것이 바람직하고 변색된 보리는 맥주제조용 맥아로서는 특히 적합하지 못하다[36]. 보리품종들의 L값은 겉보리에서 50 60의 분포로 품종간에 약간의 차이를 보였다. 쌀보리는 겉보리에 비해 L값이 낮아 표면색도가 다소 어두운 것으로 나타났다. 보리는 모든 품종에서 +a 와 +b 수치를 주어 보리 강층의 적황색을 나타내는 색소에 의한 것으로 나타났다. +의 경우 적색도를, - 인 경우 녹색도를 나타내는 a값의 경우 껍질보리에서 +3.5 +5.5의 분포로 별 차이가 없었으며 쌀보리에서는 적색도가 약간 더 높게 나타났다. 한편 황색도를 b값의 경우 +14.0 +19.2의 분포로 황색도가 높았다. 보리는 강층(과피, 호분층)에 melanin 계통의 색소를 포함하기 때문이며 내부 배유보다 색상이 어두우며 강층에 적황색을 나타내는 색소들(carotenoids, xanthophylls, anthocyanins)이 존재하는 것[37]으로 알려져 있다.

보리곡립의 피해는 곡립의 성숙이나 수확중의 기후조건에 따른 심각한 변색을 초래하며 이는 미생물에 의해 손상되어 마르거나 검은 끝부분 혹은 쥐색을 가져

다 줄 수 있다. 보리곡립이 밝은 색을 주거나 비정상적인 변색이 없어야 맥아제조용 보리로서 바람직한 원료로 적합할 것이다. 보리곡립에서 색의 차이는 weathering, 미생물 감염, 열, 상해, 발아 등에 의해 피해를 입은 곡립으로부터에서 유래할 수 있다.

표 10. 엿기름 제조를 위한 품종별 보리원맥의 품질

품종	색도			피해립(%)	파쇄립(%)
	L	a	b		
강보리	57.10	5.51	8.07	0.44	0.34
낙영보리	57.65	4.85	18.43	0.26	-
대진보리	59.91	5.41	19.24	-	1.25
밀양겉보리	57.31	3.48	16.23	1.64	-
새강보리	60.30	4.27	18.35	0.78	-
새알보리	58.95	3.71	18.13	1.52	0.26
새올보리	58.70	4.27	16.78	0.17	-
알보리	58.58	3.91	16.57	0.44	0.50
오월보리	59.97	4.75	19.02	0.54	1.38
올보리	58.37	4.80	18.59	-	-
진양보리	56.63	4.26	16.59	0.41	0.52
찰보리	58.86	4.48	18.18	-	-
큰알보리	56.01	4.54	17.27	-	-
탑골보리	59.73	4.50	18.03	0.30	0.14
긴쌀보리	49.66	5.70	14.03	-	3.77
새찰쌀보리	56.10	6.21	7.74	-	0.65

나. 보리의 수분 및 단백질

품종별 보리의 수분 및 단백질 함량은 표 8에 나타나 있다. 보리원맥의 수분 함량은 9.7 11.3% 분포(평균 10.39%)로 모든 품종에서 유사하게 나타났다. 수분함량이 높으면 상대적으로 건조물의 함량이 낮고 저장성이 떨어지는데 수분함량이 13.5% 이상이면 곰팡이가 자라게 되어 발아율이 떨어지고 맥주제조시 맛과 향기가 저하된다[15].

보리의 단백질 함량은 Kjeldahl법에 의해 측정되었는데 보리의 산 가수분해에 의한 총 질소가 암모니아로 증류되어 적정되었으며 질소를 단백질로 전환하기위해 보리의 질소계수인 6.25를 적용하였다. 보리원맥의 단백질 함량은 11.7 17.5%의 분포(평균 15.31%)를 보였다. 2조보리인 진양보리가 14.4%로 낮은편이었으며 6조보리에서는 낙영보리와 새알보리에서 단백질 함량이 13.5% 미만이었다. 이[15]에 의하면 미국산 보리의 단백질 함량은 11.8 14.2%로 비교적 일정하였으나 한국산 보리의 단백질 함량은 9.7 15.5%로 다양하다고 하였다. 맥주맥의 경우 단백질의 함량은 매우 중요한 품질요건으로 단백질 함량이 높으면 추출수율이 낮은 반면 수용성 단백질 함량과 효소활성도가 높고 맥주제조후에 혼탁을 야기시켜 바람직하지 못한 것으로 알려져 있다. 따라서 맥주맥의 경우 단백질 함량 13.5%의 상한치를 설정해 놓고 있다. 맥주맥에서 맥아의 단백질 함량은 주정의 수율이나 haze 문제와 관련되어 있을 뿐 만 아니라 직간접적으로 발아보리의 품질 요인인 발아력, diastatic power 등과 관련이 있는 것으로 중요시 된다[3].

다. 발아율

보리의 발아능력은 엿기름의 제조에 필수적이며 이는 발아전에 수침하여 발아시키거나 건조곡립을 물에적신 paper(filter paper나 blotting paper)에 직접 발아시켜 테스트할 수 있다. 보리는 수확한 직후에 발아가 양호하지 못하기 때문에 휴면이 끝나는 시점에 대한 germinative capacity를 측정하는 것이 필요하다. 과산화수소(Hydrogen peroxide)는 수확한지 오래 경과하지 않은 보리곡립이 잠재적으로 가지고 있는 발아 반응을 극복하여 휴면타파제로 작용하며 이에 따른 보리 품종들의 발아율을 측정한 결과는 표 9에 나타나 있다. 보리 품종들을 0.75% 과산화수소 용액에서 48시간 발아시켜 측정한 발아율(germinative capacity)은 몇개 품종들을 제외하고는 거의 95% 이상을 나타내 발아율이 양호한 것으로 나타났다. 맥주제조용 맥아제조시 보리는 96%이상의 발아율을 가지고 있어야 적합하다[39]고 하였다.

2. 엿기름의 품질 평가

가. 품종별 엿기름의 품질특성

16 품종의 보리를 제맥기(Nordon Co., France)를 사용하여 침맥, 발아, 배조의 제맥과정에 의해 제조한 엿기름의 품질을 분석한 결과는 표 11과 같다. 보리의 발아후에 녹맥아를 저장성이 높고 분쇄하기에 적합하도록 건조하여야 한다. 열풍건조에 의해 측정한 엿기름의 수분함량은 8.0 9.6%의 분포로 보리의 수분함량보다 낮아졌다. 건조후 엿기름은 뿌리를 제거하기전에 86.5 92.2%의 엿기름 수율을 주었고 제근후의 엿기름은 82.0 87.5%의 수율을 주어 12.5 18.0%의 제맥후 손실(malting loss)이 발생하였다. 이 등[35]에 의하면 보리는 품종에 따라 제맥후 손실에 차이(8.9 16.6%)를 나타냈다고 보고한 바 있으며, 보리는 침맥시 먼지와 가용성 물질들이 빠지게 되며 대부분의 제맥손실은 발아와 건조시 뿌리(rootlet)와 초엽(acrospire)의 성장 그리고 호흡중 고형분의 손실에 기인되는 것으로 알려져있다.

엿기름의 천립중은 20.9 35.3 g(평균 24.8 g)의 범위로 보리원맥의 천립중인 22.2 38.0 g(평균 28.0 g)으로부터 약 12%의 중량 감소가 있었다. 이는 보리품종들의 % 제맥후 손실인 14.5%와 크게 차이가 없어 천립중의 중량감소는 보리의 제맥에 따른 손실과 직접적으로 관련이 있는 것으로 판단되었다.

엿기름 곡립의 표면색도를 측정한 결과는 표 12와 같다. 엿기름의 밝기를 나타내주는 L값은 49 62(평균 57.8)의 분포로 품종에 따른 차이가 있었으며 보리원맥의 L값과는 별 차이가 없었다. 엿기름은 보리에서와 마찬가지로 모든 품종에서 +a 와 +b 수치를 나타내었으며 a값은 +3.2 +6.3, b값의 경우 +15.5 +19.4의 분포로 적황색도가 보리원맥과 차이가 별로 없는 것으로 나타났다.

표 11. 보리의 품종별 제맥기에 의한 엿기름의 품질

품종	수분 (%)	제맥후 손실 (%)	천립중 (g)	엿기름 수율(%) 제근전	엿기름 수율(%) 제근후	단백질(%)
강보리	8.45	13.64	25.07	91.09	86.36	16.59
낙영보리	7.98	12.60	26.25	91.18	87.40	11.46
대진보리	9.29	15.01	24.15	90.24	84.99	13.80
밀양겉보리	8.29	13.59	23.98	91.42	86.41	14.27
새강보리	9.63	14.66	23.15	90.48	85.34	15.83
새알보리	8.86	14.80	24.12	90.83	85.20	13.32
새올보리	8.35	13.84	23.07	90.76	86.16	17.55
알보리	8.30	15.51	24.77	90.68	84.49	13.81
오월보리	9.26	14.25	26.80	90.81	85.75	15.63
올보리	8.70	18.01	25.15	86.52	81.99	17.11
진양보리	8.66	13.21	35.34	91.93	86.79	14.22
찰보리	8.38	15.56	20.57	89.86	84.44	16.74
큰알보리	8.10	12.49	27.01	92.22	87.51	14.99
탑골보리	8.15	14.45	20.88	90.80	85.55	15.78
긴쌀보리	8.35	13.29	24.34	91.67	86.71	15.36
새찰쌀보리	7.99	17.20	21.44	88.30	82.80	17.85
평균	8.55	14.51	24.76	90.55	85.49	15.27

*16℃ 4일발아, 45℃ 24시간 건조

엿기름으로 제조한 후의 단백질 함량은 11.5 17.9% 분포였으며 평균 단백질 함량이 15.27%로 원맥의 단백질 함량 15.31%와 거의 비슷한 값을 나타냈다. 보리의 단백질 함량과 엿기름의 단백질 함량사이의 상관계수는 r=0.952로 높은 수

치를 보여주었다. 맥아의 단백질 함량은 효소력가와 정의 상관관계를 보였다고 보고[32]한 바 있다.

표 12. 품종별 엿기름의 색도

품종	색도		
	L	a	b
강보리	58.58	4.61	17.52
낙영보리	60.08	4.04	18.92
대진보리	56.53	5.02	17.17
밀양겉보리	56.89	3.40	15.79
새강보리	61.82	4.00	17.95
새알보리	58.80	3.19	15.45
새올보리	59.08	4.23	16.67
알보리	55.64	3.85	15.41
오월보리	60.46	4.34	19.38
올보리	59.79	4.17	17.53
진양보리	58.33	4.12	16.51
찰보리	57.14	4.61	17.52
큰알보리	59.31	4.54	18.06
탑골보리	58.98	4.76	17.32
긴쌀보리	48.79	6.29	14.85
새찰쌀보리	54.70	4.72	15.80

한편 현장조건하에서 재래식으로 제조한 엿기름의 품질특성은 표 13에 나타나 있다. 엿기름의 수분함량은 6.3 8.2%였으며 엿기름의 수율은 86.3 94.4%(평균 90.8%)의 분포를 보여주어 제맥후 손실이 5.6 13.7%의 범위인 것으로 나타났다. 건조후 엿기름은 뿌리를 제거하기전에 91.3 95.9%의 엿기름 수율을 주었고 제근 후의 엿기름은 86.3 94.5%의 수율을 주어 제맥기에 의해 제조한 엿기름에 비해 약 4 5% 수율이 높았다. 현장조건하에서 재래식으로 제조한 엿기름의 경우 발아속도가 느리게 진행되는 것으로 나타났다. 재래식으로 제조한 엿기름은 수율이 높았으나 발아속도가 제맥기에 의한 엿기름에 비해 느리고 품종간의 변이 폭에 있어서도 다소 크고 불규칙적인 것으로 나타났다. 현장조건하에서 제조한 엿기름은 제조조건이 적절히 조절되지 않아 발아가 불균일하고 발아가 상대적으로 느리게 진행되는 등 엿기름의 제조조건 및 공정의 개선이 요구됨에 따라 엿기름의 적정 제조조건을 검토한 연구결과를 현장에 적용하여 품질의 개선을 도모할 필요가 있었다.

정상적인 엿기름 제조조건하에서 초엽(acrospire 혹은 celeoptile)의 신장은 배유의 물리적, 화학적 변화와 병행하는데 단단한 보리곡립이 부드러운 맥아로 전환하게 된다. 껍질안에서 초엽이 자라 보리곡립의 전체길이로 성장할 때 보리의 배유는 적절한 변형이 일어나게 된다. 맥주제조를 위한 맥아에서 초엽의 길이가 보리곡립의 전체길이를 초과하여 자라게 되어 과도한 신장이 될 경우 맥아의 품질과 경제성 면에서 바람직하지 못한 것으로 알려져 있다.

발아기간중 측정한 보리의 품종별 초엽의 길이를 측정하여 평균 신장도(Mean acrospire length)로 나타내었으며 곡립의 길이와 같을 때의 신장도를 100%로하여 비교하였을때 보리는 품종에 따라 신장속도에 다소 차이를 보였다 (표 14). 초엽이 길이는 발아 3일에 33 61%에서 발아 4일에 68 109%로 가장 급격히 증가하였으며 발아 5일 후에 94 123%의 평균 초엽신장도 분포를 나타내었다. 한편 발아율이 높은 보리품종이 초엽의 신장도가 높은 경향이 있는 것으로 나타났

다. 현장에서 엿기름의 효소력가를 간접적으로 신속히 평가할 수 있는 손쉬운 방법중의 하나가 초엽의 신장도를 측정하는 것이라 판단되었으며 초엽의 길이와 엿기름 당화 효소력가와의 상관관계를 분석하여 효소력가의 측정에 활용할 수 있는 것으로 여겨졌다.

표 13. 보리의 품종별 재래식으로 제조한 엿기름의 품질

품종	수분 (%)	제맥후 손실 (%)	엿기름 수율(%)	
			제근전	제근후
강보리	6.31	7.97	94.99	92.03
낙영보리	6.49	7.14	95.02	92.86
대진보리	6.84	8.05	94.17	91.95
밀양겉보리	6.42	5.55	95.85	94.45
새강보리	7.42	11.41	92.47	88.59
새알보리	8.16	13.47	92.04	86.53
새올보리	6.69	7.29	94.82	92.71
알보리	6.97	11.94	92.08	88.06
오월보리	6.97	8.24	95.34	91.76
올보리	8.02	7.77	94.75	92.23
진양보리	7.19	7.87	94.77	92.13
찰보리	7.49	13.69	91.19	86.31
큰알보리	7.54	6.50	95.74	93.50
탑골보리	7.83	11.78	92.50	88.22
긴쌀보리	7.56	9.42	92.67	90.58
새찰쌀보리	7.32	9.43	95.39	90.57
평균	6.77	9.22	93.99	90.78

* 16℃ 4일 발아, 50℃ 24시간 건조

표 14. 보리품종의 발아기간별 초엽의 평균신장도(%)*

품종	발아기간 (일)			
	2	3	4	5
강보리	28.25	37.75	103.00	116.00
낙영보리	23.75	40.00	67.50	93.75
대진보리	28.25	49.00	81.50	108.50
밀양겉보리	26.00	44.25	96.75	117.50
새강보리	27.75	37.50	77.75	114.00
새알보리	26.50	37.75	106.25	122.75
새올보리	27.25	33.25	81.25	114.5
알보리	28.75	61.00	109.00	117.25
오월보리	27.25	37.50	99.00	123.25
올보리	23.25	38.75	86.00	108.75
진양보리	28.25	48.75	98.75	117.5
찰보리	27.75	41.00	106.25	122.75
큰알보리	25.75	33.75	66.50	120.25
탑골보리	29.50	36.25	93.25	122.00
긴쌀보리	24.50	54.25	105.75	107.50
새찰쌀보리	25.25	53.75	107.00	108.50
평균	26.75	42.78	92.84	114.67

* ASBC(American Society of Brewing Chemists) 방법

나. 엿기름의 효소력가

엿기름의 품질중 가장 중요한 인자인 당화에 관여하는 효소의 활성도 혹은 전분을 분해하는데 관여하는 모든 효소를 총칭하여 당화력(diastatic power)이라 한다. 여기서 효소라 함은 주로 β-amylase와 α-amylase를 말하며 이들을 종합하여 diastatic power로 표시하였다.

엿기름의 당화력(DP)은 보리품종에 따라 큰 차이를 나타냈다(표 15, 16). 제맥기를 사용하여 제조한 엿기름의 경우 139 220。L의 범위였으며 재래식으로 제조한 엿기름은 80 140。L 사이로 전반적으로 제맥기에 의한 대조구의 엿기름이 재래식으로 제조한 엿기름에 비해 약 1.7배 가량 당화력이 크게 높았다. 품종별로는 2조 겉보리에서 가장 낮았으며 오월보리, 탑골보리 등 6조 겉보리에서 높았고 쌀보리의 경우 6조 겉보리에 비해 약간 당화력이 낮게 나타났다. 제맥기에 의한 β-amylase와 α-amylase의 효소활성 역시 제맥기에 의한 엿기름이 현장조건하에서 재래식으로 제조한 엿기름의 효소활성에 비해 높았다. 현장조건하에서 제조한 엿기름은 발아과정이 불균일하고 발아속도가 상대적으로 낮아 α-amylase의 합성이 충분치 않은 것으로 조사되었으며 효소력가 증진을 위한 제조공정의 개선 및 적정 제조공정의 확립이 필수적인 것으로 나타났다.

표 15. 보리의 품종별 제맥기에 의한 엿기름의 효소력가

품종	DP (。L)	β-amylase* (Betamyl unit)	α-amylase** (Ceralpha unit)	β-glucanase***
강보리	179	1623	186	772
낙영보리	150	1254	186	670
대진보리	154	1307	210	773
밀양겉보리	181	1585	223	1183
새강보리	182	1548	197	731
새알보리	178	1591	237	839
새올보리	151	1272	240	596
알보리	190	1662	253	963
오월보리	220	1927	181	704
올보리	182	1542	229	642
진양보리	139	1126	204	460
찰보리	159	1386	202	861
큰알보리	148	1314	198	783
탑골보리	199	1752	188	657
긴쌀보리	155	1309	249	852
새찰쌀보리	154	1374	125	387
평균	170	1473	218	742

*Beta-amylase assay procedure (Megazyme assay kit), Betamyl Unit.

**Alpha-amylase assay procedure (Megazyme assay kit), Ceralpha Unit.

***Beta-glucanase assay procedure (Megazyme assay kit), U/kg

표 16. 재래식으로 제조한 품종별 엿기름의 효소력가

품종	DP (。L)	β-amylase* (Betamyl unit)	α-amylase** (Ceralpha unit)
강보리	123	920	123
낙영보리	89	1102	67
대진보리	79	1031	22
밀양겉보리	109	1205	50
새강보리	117	1371	44
새알보리	131	1497	218
새올보리	80	739	78
알보리	129	1556	119
오월보리	113	1508	55
올보리	92	1171	55
진양보리	85	915	95
찰보리	115	1728	151
큰알보리	83	1007	53
탑골보리	140	1626	88
긴쌀보리	115	1595	121
새찰쌀보리	82	1769	69
평균	105	1296	92

*Beta-amylase assay procedure (Megazyme assay kit), Betamyl Unit.

**Alpha-amylase assay procedure (Megazyme assay kit), Ceralpha Unit.

3. 엿기름의 효소력가와 관련한 품질요소 분석

보리품종들의 용적중, 천립중, 발아율, 단백질 함량, 풍만도, 색도 등의 품질특성을 조사하여 측정하여 엿기름의 당화 효소력과와의 상관관계를 조사한 결과 엿기름의 효소력가는 원맥의 품질인자와 상관관계가 크게 높지 않은 것으로 보이나 전반적으로 중량이 적은 품종이나 덜 풍만한 품종에서 효소력가가 다소 높은 경향을 보여주었다(표 17).

표 17. 엿기름의 효소력가와 원맥의 품질인자와의 상관계수

품질인자	용적중	천립중	단백질	풍만도	잠재적 DP	초엽길이
엿기름의 효소력가(DP)	- 0.20	- 0.39	0.11	- 0.23	0.79	0.45

* n=16

보리품종의 천립중은 22.2 g 38.0 g(평균 28.03 g), 곡립의 크기 혹은 곡립의 풍만한 정도인 정립율은 5 76% 이었는데 이들간에는 서로 높은 상관관계(r = 0.96)가 있음을 알 수 있었다. 보리원맥의 단백질 함량은 11.7 17.5%의 분포로 엿기름의 수율과는 부의 상관관계를 보였주었다. 맥아의 단백질 함량은 diastatic power와 부의 상관관계를 나타내었다고[38]하였으나 본 실험에서는 엿기름 단백질 함량과 당화력사이에 별다른 상관관계를 확인할 수 없었다.

엿기름을 제조하기 위한 원료로서 원맥이 지니고 있는 잠재적인 당화력(Potential DP)이 발아후의 엿기름 당화력과 직접적인 상관관계가 있는 것으로 추정되었으며 이에 대한 원맥의 잠재적인 당화력을 분석하였다. 전분의 분해에

관여하는 효소중 α-amylase는 보리원맥에 거의 존재하지 않고 곡립이 발아할 때 충분히 합성되어지는 반면에 β-amylase는 보통 보리원맥에 상당히 존재하는데 주로 단백질과 결합된 형태로 활성이 없는 상태에서 발아중에는 효소활성이 적절히 증가하게 된다. 보리원맥의 결합 β-amylase는 proteolytic enzyme인 papain 처리에 의해 분리되어 나올 수 있으며(ASBC 방법) 본 실험에서는 효소처리 없이 단순히 물추출에 의한 보리원맥의 β-amylase 함량을 측정하여 potential diastatic power로 하였다. 보리원맥이 지니고 있는 β-amylase에 의한 잠재적인 당화력(Potential DP)을 측정한 결과에 의하면 발아후의 엿기름 당화력과 상관관계(r=0.79)가 있는 것으로 보여졌으며(그림 12) potential diastatic power가 엿기름의 당화력을 예측하는데 유용하게 쓰일 것으로 판단되었다. 따라서 보리원맥의 potential diastatic power는 발아후 제조된 엿기름의 당화력을 평가할 수 있는 매우 중요한 품질인자인 것으로 사료되었다.

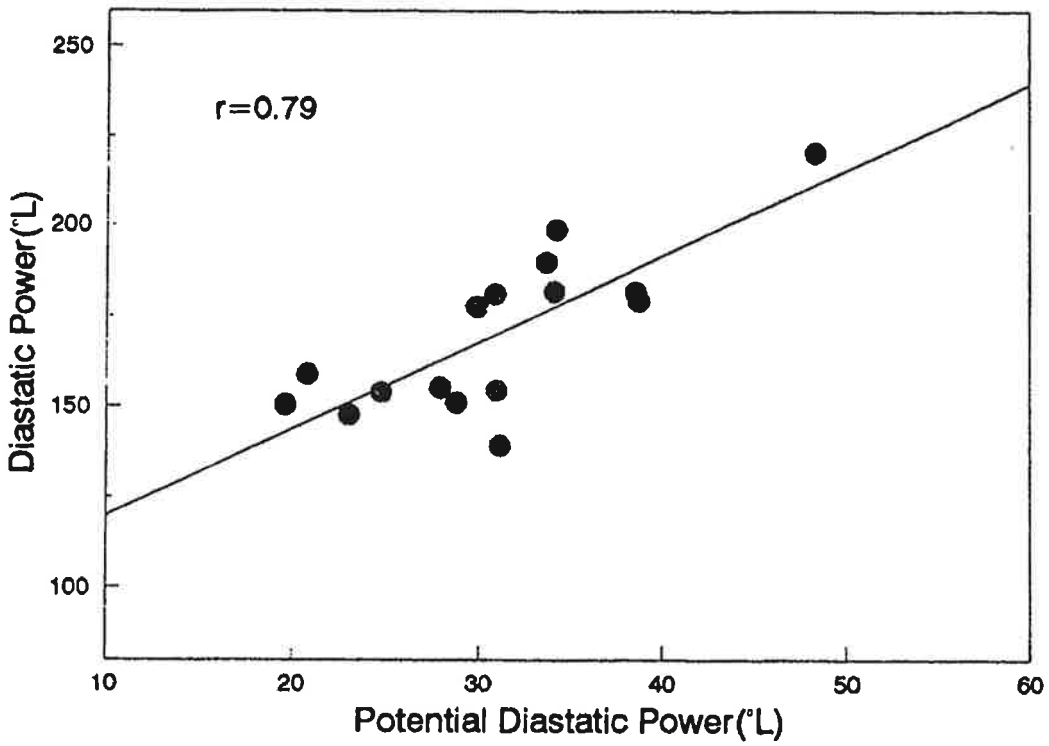

그림 12. 엿기름의 당화력(DP)에 대한 원맥의 잠재적 당화력(Potential DP)의 관계

제 3절 엿기름의 효소력가 검정 및 간이 측정법 개발

1. 효소력가 검정방법의 비교 및 상관관계

가. 효소력가 검정방법의 비교

엿기름의 품질특성중 전분의 당화에 관여하는 효소의 활성은 매우 중요하며 전분을 분해하는데 관여하는 대표적인 효소는α-amylase와 β-amylase이다. 맥아의 전분분해 당화력을 검정할 수 있는 공식적인 효소력가의 검정방법으로는 우선적으로 ASBC(American Society of Brewing Chemists) 방법, EBC(European Brewing Chemist) 방법 및 AACC(American Association of Cereal Chemists)에 근거한 Diastatic power(DP)를 측정하였다. Diastatic power는 전분 기질이 맥아내의 amylases에 의해 분해됨에 따른 환원력을 측정하여 나타내는데 맥아내의 amylases(α-, β-), 그 중에서도 주로 β-amylase의 효소력가를 나타내며 β-amylase에 의해 분해된 maltose를 환원당 비색측정법에 의해 결정하였다.

α-Amylase는 발아, malting, sprouting에 있어 중요하며 이 효소의 활성도를 측정하기 위한 여러가지 기술이 개발되어 있다. 전분의 가수분해 능력을 측정할 수 있는 다양한 α-amylase의 분석방법에 관한 연구들이 보고된 바 있으며 이는 amylase 효소반응의 여러가지 측면을 고려하여 전분겔의 액화, 요오드에 의해 정색 반응된 β-limit dextrin의 색 감소, 전분용액의 환원력 증가 (AACC), chromogenic substrate로부터 염색물질의 형성 등의 방법40-42)에 의해 측정할 수 있다. 이러한 α-amylase의 분석방법들은 유용하게 활용되는 측면도 있는 반면에 각각의 단점이 있으며 이는 많은 시간의 소요, α-amylase 활성의 비특이성 (nonspecificity), 낮은 민감도, 서로 다른 방법간의 상관관계 결여 등을 들 수 있다.

α-Amylase 측정방법으로 Nephelometric(turbididometric) 방법은 β-amylase의 간섭을 배제할 수 있는 β-limit dextrin을 기질로 하여 기질 용액으로부터 분산되는 빛(nephelos)의 감소율을 측정하였으며 이를 효소활성도와 직접적으로 관련시킬 수 있었다[43-45]. Nephelometric 방법은 liquefaction number[45], falling number[46], 아밀로그래프 점도[47] 등에 의한 측정법과 높은 상관관계가 있다고 하였다[48]. 이 방법은 점도감소 방법에 비해 빠르게 분석할 수 있고 정확하지만 사용되는 기질이 다소 비싼 단점을 안고 있다.

α-Amylase의 활성은 염색된 전분을 효소의 기질로 사용하여 간편하게 측정할 수 있다. 염색된 기질인 Cibacron-blue amylose(CBA)의 사용은 β-amylase에 의한 공격에 견디며 곡류의 α-amylase에 한정적으로 작용하는 측정으로서 단순하고 빠르게 측정할 수 있는 방법[40]이다. 또한 α-amylase의 활성은 β-limit dextrin을 기질로하여 α-amylase의 효소분해력에 따른 전분 요오드 염색법에 의해 색도의 변화로 측정할 수 있다.

α-Amylase와 β-amylase 효소의 활성도는 상업적 분석 kit(Megazyme assay kit, Australia)를 사용하여 보다 간편하면서 신속, 정확하게 측정할 수 있었다. 보통 전분을 기질로하여 분해된 maltose 환원당을 비색 측정하는 β-amylase 측정 방법과는 달리 Megazyme사에서 제조된 Betamyl β-amylase 분석시약은 p-nitrophenyl maltopentaoside(PNPG5)를 기질로 사용하며 이는 β-amylase에 의해 maltose와 p-nitrophenyl maltotriose(PNPG3)로 가수분해 되는데 p-nitrophenyl maltotriose는 기질혼합물에 포함되어 있는 α-glucosidase에 의해 즉시 glucose와 자유 p-nitrophenol(PNP)로 끊어진다. p-Nitrophenol의 생성은 β-amylase에 의한 maltose의 생성속도와 직접적으로 관련되어 있으며 phenolate 색의 발현에 따른 흡광도로 측정되었다.

Megazyme α-amylase 분석 kit는 기질로 올리고당 BPNPG7과 충분한 양의 amyloglucosidase와 α-glucosidase를 포함하고 있으며 endo-acting α-amylase

에 의해 올리고당이 가수분해됨에 따라 amyloglucosidase와 α-glucosidase가 즉각적으로 p-nitrophenyl maltosaccharide를 glucose와 자유 p-nitrophenol로 가수분해하여 색을 발현함에 의해 측정되었다. 이들 분석 kit를 이용한 방법은 타 방법에 비해 보다 신속하고, 간편하며 신뢰도가 높은 측정방법으로 전분분해 효소인 β- 및 α-amylase을 정확하게 검정하기 위한 데이타로 활용을 목적으로 하였다.

나. 효소력가의 상관관계

품종별 전분의 당화력을 측정한 엿기름의 Diastic Power는 α-amylase 활성과는 별 상관관계가 없는 반면에 β-amylase와 매우 높은 정의 상관관계(r=0.98)를 보여주어(그림 13) 엿기름의 β-amylase 활성이 당화력에 직접적으로 관여하는 매우 중요한 인자인 것으로 확인되었다.

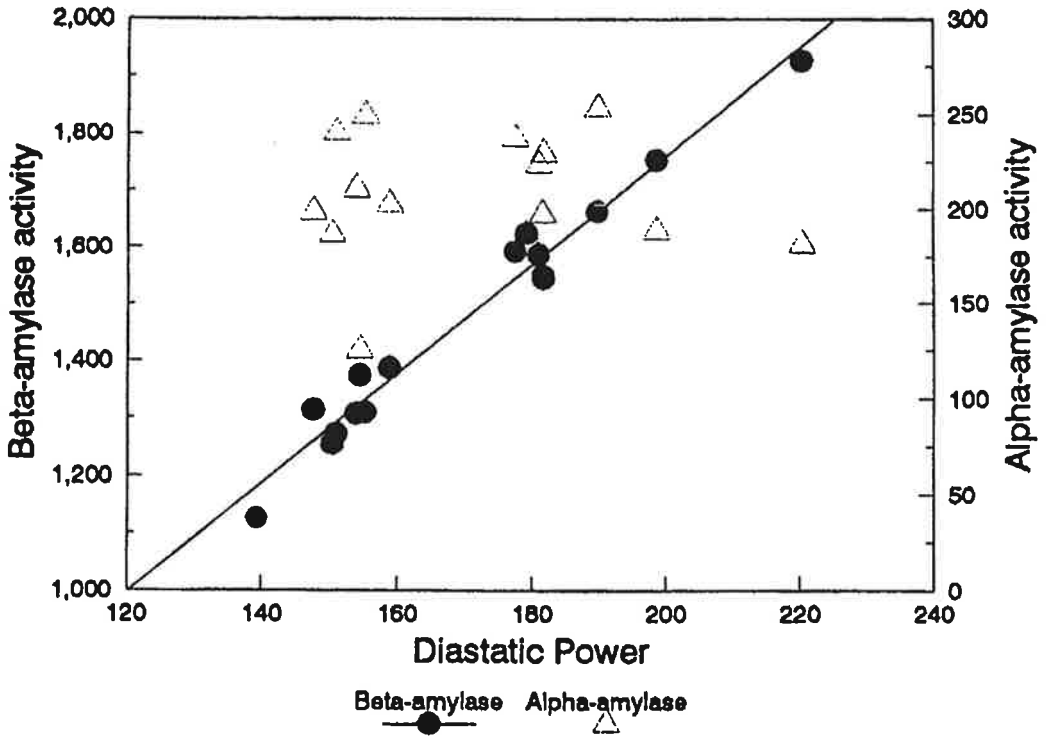

그림 13. 엿기름의 Diastatic Power와 관련한 β- 및 α-amylase 효소활성

자료출처 : 당화용 엿기름의 효소력가 증진 및 품질기준설정에 관한 연구 / 농림부

한편 당화용 엿기름의 효소력가를 간접적으로 측정하는 방법으로서 Amylograph를 사용한 전분기질 점도감소 방법을 검토하였으며 환원당 비색측정법인 diastatic power와의 상관관계를 비교, 분석하였다. Amylograph를 이용하여 전분기질 점도감소를 측정한 결과 엿기름의 첨가에 의한 amylograph 호화특성에서 점도의 감소는 환원당 비색측정법인 DP 수치와 별 관련이 없었다. Amylograph에 의한 전분의 점도 감소효과는 β-amylase와는 별 관련이 없는 반면에 발아중 합성되어지는 α-amylase와 관련(r=0.83)이 있는 것으로(그림 14) 확인되었다.

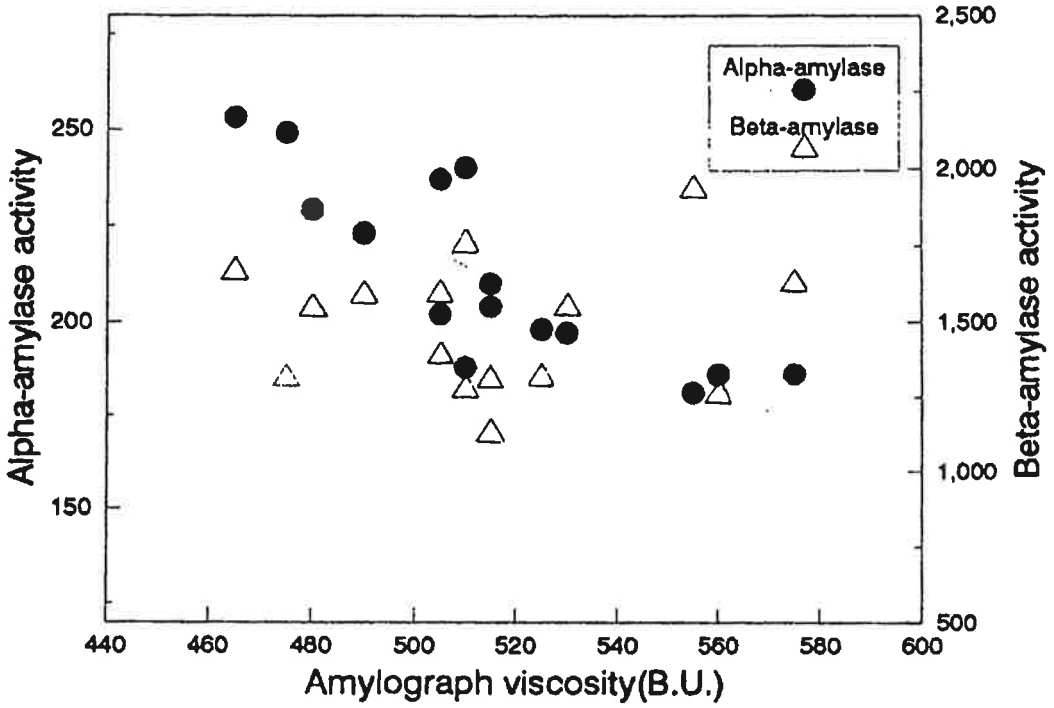

그림 14. 엿기름의 amylase 활성이 Amylograph 점도에 미치는 영향

자료출처 : 당화용 엿기름의 효소력가 증진 및 품질기준설정에 관한 연구 / 농림부

2. 효소력가 간이측정법의 개발

가. 초엽의 길이에 의한 판별

Diastatic Power는 엿기름의 당화력을 검정하는 기본적인 분석방법으로 전분의 가수분해에 의한 환원당을 요오드 정색반응에 의해 측정하는데 분석에 상당한 시간을 요하기 때문에 현장에서 활용가능한 간편하고 신속한 평가가 이루어 질 수 있는 방법을 모색하였다. 전분점도감소 방법은 기기를 사용해야하며 DP와 별 상관관계가 없는 것으로 확인되 현장에서 유용한 방법으로는 적합하지 않았다.

현장에서 엿기름의 효소력가를 간접적으로 평가하는 손쉬운 방법중의 하나가 발아하는 보리곡립에 대한 초엽의 신장도를 측정하여 판별할 수 있는 방법이 있다. 보리의 발아일수별 초엽의 신장도를 측정한 결과는 표 18에 나타나 있다. 초엽의 신장도는 발아 2일의 30%에서 지속적으로 증가하여 발아 5일경에 보리 곡립의 길이만큼 자라 껍질로부터 나오기 시작하여 발아 7일경에는 180% 까지 성장하였다. 발아일수별 엿기름 당화 효소력가(DP)를 분석하였으며 초엽의 신장도와의 상관관계를 조사한 결과 신장도 120 180사이에서 당화력이 우수한 것으로 나타났다(표 18).

표 18. 엿기름의 발아에 따른 초엽의 평균 신장도와 당화 효소력가

\발아일수(일)	0	2	3	4	5	6	7
초엽의 평균신장도(%)	-	30.0	32.6	50.4	94.0	123.3	180.5
당화 효소력가(DP)	93.6	95.0	122.4	142.6	179.8	211.1	215.5

나. Gel-diffusion 분석에 의한 판별

발아보리의 효소를 신속하고 단순하게 측정할 수 있는 방법은 적합한 기질을 담은 agar plate에 기질이 분해되어가는 속도를 측정함으로써 평가할 수 있다. 따라서 신속히 당화력을 측정하기위한 방법으로 전분-agar 겔을 petri-dish에 넣고 발아중인 보리 곡립이나 추출물을 반응시켜 일정시간 동안 효소작용에 의해 기질(전분)이 분해된 정도를 요오드 정색반응된 청색이 소실되면서 확산되어가는 정도에 의해 측정할 수 있는 방법을 연구하였다. 이 방법은 diastatic power 측정과 같이 시간을 요하는 정량적 방법과 비교하여 상대적으로 정확하지는 못한 단점이 있지만 곡립의 대략적인 α-amylase 함량을 신속하게 평가할 수 있는 방법이다.

보리곡립 추출물이 전분이나 β-limit dextrin이 포함된 agar상에 놓인 1.0 cm filter paper disc로부터 분해되어 확산되도록 적절히 반응시킨 후 묽은 요오드 용액으로 남아있는 기질의 요오드 정색반응에 의한 청색을 염색하였다. 효소의 분해 확산속도는 반응시간, 반응온도, agar gel의 깊이, 기질의 농도 등에 의해 영향을 받았다. β-limit dextrin 기질을 사용하면 추출물에 있는 β-amylase에 의한 영향을 덜 받고 α-amylase의 표준량에 전분보다 더 선명한 반응을 보이는 것으로 보고된[13] 바 있다. 곡립의 효소 추출물이 paper disc상의 agar 표면에 적용되었으며 당화력이 높거나 낮은 품종사이의 차이를 식별할 수 있었다.

한편 당화효소의 생성을 측정하기 위하여 같은 방법으로 효소추출물 대신 직법 발아 보리곡립을 사용할 수 있으며 반쪽으로 나눈 곡립을 agar 표면에 직접 적용하여 측정할 수 있었다. 이는 효소 추출의 필요성을 없애 대부분의 효소분석에서 시간이 많이 소요되는 작업을 제거하기 위함이었다. Halo 직경과 효소활성도 수치에서 상당한 변이가 있었지만 정확한 결과를 위해 여러차례 반복 측정하였으며 반쪽 곡립에 의한 halo 직경은 효소활성도 수치와 상관관계가 높게 나타났다.

또한 전분에 염색물질을 결합하여 제조된 기질을 사용하여(Starch Azure, Cibichrone Blue Amylose 등) 효소작용에 의해 분해되어져 나오는 염색물질의 흡광도에 의해 신속하게 효소력가를 측정할 수 있는 방법에 대하여 보고된 바 있다. 엿기름의 당화력에 대한 이들 검정방법과의 상관관계를 조사하여 현장에서 신속하게 측정가능한 간이검정법의 개발이 가능하다고 사료되었다. 본 연구에서는 요오드 반응에 의한 전분 겔확산 분석에 대하여 중점적으로 실험해 보았다.

4일간 발아시켜 제조한 엿기름으부터 추출한(엿기름:추출물양=1:20) 맥아 추출물을 agar-전분 겔 plate상의 1cm filter paper에 적용한 후 전분이 분해되어 확산되는 속도를 측정하였으며 빠르고 선명한 clear zone을 얻기위해 여러 가지 조건을 설정하였다. 표 19는 agar의 농도와 plate에 담는 agar의 양을 달리하여 제조한 전분-agar plate 별 추출액의 전분분해 확산반경을 나타낸 결과이다. Agar의 농도가 증가함에 따라(0.3 1%) 확산반경은 약간 감소하였으나 거의 차이를 보이지는 않았으며 agar의 농도가 0.3% 이하에서는 겔이 잘 형성되지 않았다. 또한 plate에 적용하는 agar의 양은 10 30 ㎖ 사이에서 별 영향이 없었다.

표 19. Agar의 양과 농도에 따른 gel diffusion (mm)

	Agar 농도(%)*			Agar의 양 (㎖)**		
	0.3	0.5	1.0	10	20	30
겔 확산(mm)	28.8	28.5	28.0	37.3	36.5	38.0

*옥수수전분 1%

**옥수수전분 0.1%, agar 0.5%

***38℃, 20시간 incubation

엿기름 추출액 효소의 기질로 사용되어지는 전분의 농도와 종류에 따라 agar gel의 전분분해 확산속도를 조사한 결과는 표 20과 같다. 겔의 확산속도는 전분의 농도가 감소함에 따라 증가하여 전분농도 0.05%에서 확산속도 및 clear zone의 선명도에서 가장 적합한 것으로 관찰되었다. 기질로 사용한 옥수수전분과 고구마전분은 겔확산의 차이가 거의 없는 것으로 나타났다.

표 20. 전분의 농도와 종류에 따른 gel diffusion (mm)

	전분 농도(%)*			전분의 종류**	
	0.05	0.1	0.2	옥수수	고구마
겔 확산(mm)	39.5	37.0	34.0	38.0	39.0

*Agar 0.5%, 20 ㎖

**Agar 0.5%, 20 ml; 전분 0.05%

**38℃, 20시간 incubation

엿기름 추출물의 농도와 양은 겔확산에 영향을 줄 수 있다. 추출에 사용된 엿기름의 양에 따른 추출물의 농도를 6.7 33.3% 범위에서 paper disc에 적용하는 추출물의 양을 달리하였을때 반응후 겔확산을 측정하여 본 결과는 표 21과 같다. 추출물의 농도 20%에서 전분의 분해 확산속도가 가장 높았으며 33.3%에서는 약간 낮아지는 경향을 보여주었다. 추출물의 양이 많아질수록 확산속도가 빨랐으나 5 10㎕ 사이에서 원형의 선명한 clear zone을 형성한 반면 20 ㎕ 이상의 양을 적용하였을때에는 paper disc에 적용되는 추출물의 양이 많아 균일하게 분해, 확산되지 못하고 확산되어 나가는 방향이 쏠리는 현상을 야기시켜 직경을 정확하게 측정할 수 없었다. 따라서 10 ㎕가 1 cm paper disc에 적용하기에 가장 적합한 추출물의 양인 것으로 판단되었다.

표 21. 엿기름 추출물의 농도 및 양에 따른 gel diffusion(mm)

추출물의 양 (μℓ)	추출물의 농도(%)		
	6.7	20	33.3
5	28.0	30.5	28.5
10	29.5	31.5	28.5
20	32.0	33.5	32.0

*Agar 0.5%, 전분 0.05%
38℃, 20시간 incubation

보리의 품종별 엿기름의 추출물을 38℃에서 24시간 동안 반응시키는 동안 겔 확산 속도를 측정한 결과는 표 22에 나타나 있다. 16개 품종의 추출물에서 3시간 반응후의 겔확산은 13.5 17.0 mm 사이의 분포를 보여 품종에 따라 크게는 5.0 mm의 겔 확산 차이를 보여주었다. 그러나 반응시간이 경과됨에 따라 품종별 겔 확산에 있어 큰 차이가 없는 것으로 관찰되었다. 16품종별 최대 겔확산 차이는 반응 6, 9, 12, 24시간에 각각 3.0, 2.5, 5.0, 5.5 mm이었다. 따라서 품종별 엿기름의 효소력에 따른 겔확산은 반응 후 3시간 내외면 판별할 수 있는 것으로 사료되었다.

겔확산은 α-amylase와 관련이 있어서 α-amylase 활성이 상대적은 높게 조사된 새올보리, 알보리, 진양보리, 찰보리 등에서 겔확산이 높은 경향이 있었으며 α-amylase 활성이 낮은 강보리, 오월보리, 탑골보리, 새찰쌀보리 등에서 낮은 경향이 있었다. 품종에 따른 엿기름의 α-amylase 활성과 겔확산은 약간의 상관관계를 준 반면 엿기름의 DP는 겔확산과 별 상관관계가 없는 것으로 조사되었다.

표 22. 품종별 엿기름 추출물의 반응시간에 따른 gel diffusion (mm)

품종	반응시간(시간)				
	3	6	9	12	24
강보리	13.5	17.5	19.0	23.0	29.5
낙영보리	15.5	18.5	19.5	23.0	28.5
대진보리	10.0	16.5	19.0	22.0	29.0
밀양겉보리	16.0	17.5	19.5	23.0	30.0
새강보리	15.0	18.0	19.5	21.5	29.0
새알보리	15.0	18.5	21.0	22.5	29.0
새올보리	16.5	18.0	20.0	24.0	30.5
알보리	16.5	18.5	19.5	24.0	29.5
오월보리	13.0	18.0	19.0	23.5	28.5
올보리	15.0	19.0	22.0	23.0	30.0
진양보리	17.0	18.0	20.5	25.5	29.5
찰보리	18.0	19.5	22.0	23.5	32.5
큰알보리	15.0	18.5	21.5	22.5	30.5
탑골보리	13.5	18.0	20.5	22.5	29.0
긴쌀보리	15.0	18.5	19.5	23.0	28.5
새찰쌀보리	13.5	18.5	20.0	20.5	27.0

*Agar 0.5%, 전분 0.05%

전분-agar 겔의 반응온도에 따른 영향은 온도가 30 70℃로 증가함에 따라 겔 확산이 증가하였다(표 23). 그러나 온도가 50℃ 이상일때 겔확산의 halo 선명도가 떨어졌으며 정확한 측정을 위해서는 40℃ 정도가 적정 반응온도인 것으로 여겨졌다.

표 23. 반응온도에 따른 엿기름 추출물의 gel diffusion (mm)

	반응온도(℃)				
	30	40	50	60	70
겔 확산 (mm)	15.6	16.5	17.4	18.5	18.5

발아일수에 따른 엿기름의 추출물에 대해 겔 확산 속도를 측정한 결과는 표 24와 같다. 2일간의 침맥을 시킨 후에 발아일수가 경과함에 따라 발아 0일에 겔 확산은 11.6 mm에서 지속적으로 증가하여 발아 6일에선 17.5 mm로 최고에 도달하였으며 발아 7일에는 겔 확산이 15.9 mm로 떨어졌다. 이러한 겔 확산 결과는 발아중의 α-amylase 합성이 발아 6일까지 지속적으로 증가하였으며 그이후부터는 활성이 감소되었음을 제시해 주었다. 엿기름의 당화력과 관련이 있는 β-amylase의 활성 역시 발아아 함께 증가하여 α-amylase 활성과 유사한 증가를 보이기 때문에 α-amylase의 활성이 높은 발아 5 6일 경에 당화력 또한 가장 높은 것으로 여겨졌다. 발아조건에 따른 차이가 있지만 16 18℃에서 5 6일 발아시킨 보리에서 당화력과 관련한 효소활성도가 높으며 이때의 전분 겔 분해 확산속도와 관련한 α-amylase 활성은 품종간에 다소의 차이는 있지만 38℃에서 3시간 반응시킨 경우 약 15 17mm 정도인 것으로 관찰되었다. 그림 15는 엿기름 추출물을 사용한 gel-diffusion plate를 비교한 결과이다.

표 24. **발아일수에 따른 엿기름 추출물의** gel diffusion(mm)

	발아일수(일)						
	0	2	3	4	5	6	7
겔 확산(mm)	11.6	13.3	13.8	15.5	15.9	17.5	15.9

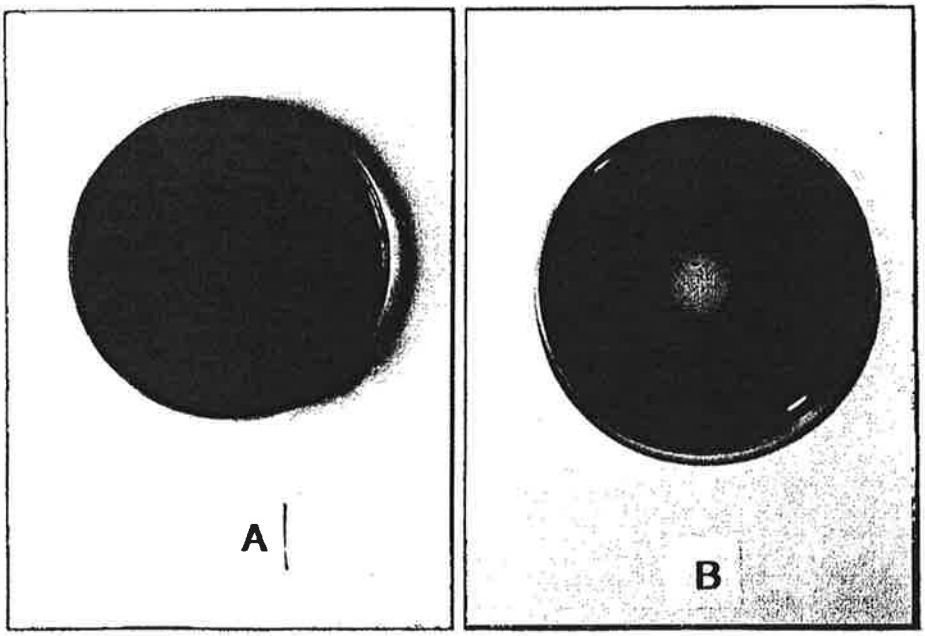

그림 15. 엿기름 추출물의 gel-diffusion 비교

A: 저 효소력가에 의한 겔 확산, B: 적정 효소력가에 의한 겔 확산

대부분의 효소분석에서 많은 시간이 요구되는 효소추출의 절차를 없애 신속하게 효소력가를 측정하기 위한 방법으로 발아곡립을 직접 agar plate에 적용하여 겔 확산 속도를 측정하였다. 즉 발아곡립의 중앙을 칼로 반으로 나눈 후 곡립의 배아 반대쪽 끝의 자른 표면을 밑으로 하여 agar plate 표면에 세우고 효소반응을 진행하였으며 이때 효소반응에 의해 나타난 halo의 직경은 효소활성도 수치와 상관관계가 높은 것으로 나타났다. 원맥의 겔확산은 5.7 mm로 곡립으로부터 거의 확산이 없었으며 발아가 진행됨에 따라 발아 1일 6.4 mm에서 발아 7일경 11.4 mm로 증가하였다(표 25). 적정 발아조건에서 5 6일간 발아시킨 엿기름의 효소력가가 우수한 품질인 것으로 간주하였을때 발아곡립의 겔 확산 직경은 10 mm 이상인 것으로 관찰되었다. 그림 16은 발아곡립을 사용한 gel diffusion plate를 비교한 결과이다.

표 25. 발아일수에 따른 보리곡립의 gel diffusion (mm)

	발아일수(일)							
	원맥	0	1	2	3	4	5	6	7
겔 확산(mm)	5.7	6.4	6.4	7.3	7.0	8.3	9.6	11.0	11.4

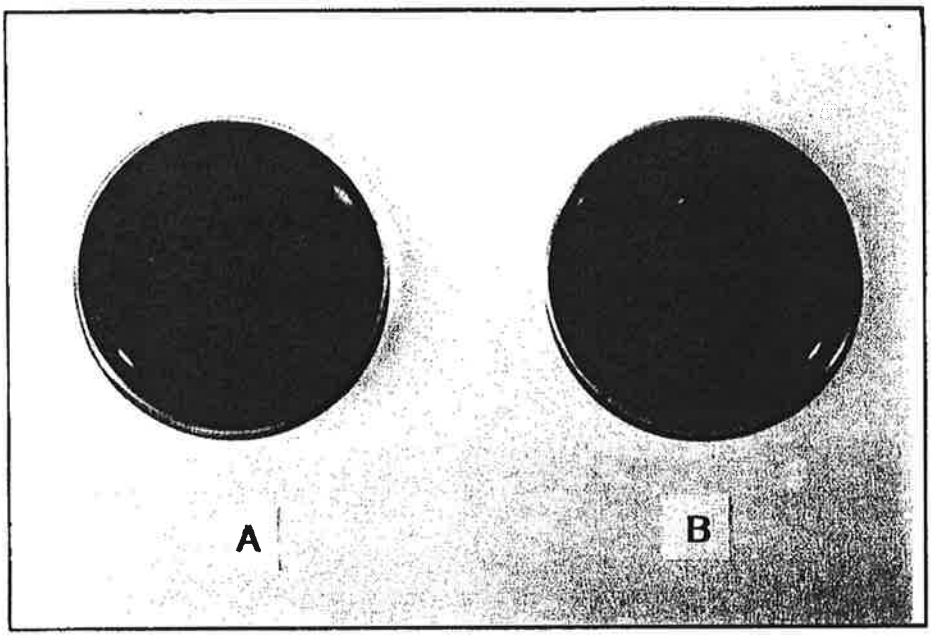

그림 16. 발아곡립의 gel-diffusion 비교

A: 저 효소력가에 의한 겔 확산, B: 적정 효소력가에 의한 겔 확산

제 4절 엿기름의 사용방법 및 사용형태 검토

1. 효소력가에 따른 엿기름의 분획

엿기름의 품질에 대한 문제점을 개선하기 위하여 우선 현재 시판되고 있는 엿기름 제품들을 수집하여 품질을 분석하였으며 이에 따른 엿기름의 효소력가를 향상시킬 수 있는 품질개선 방안을 모색하였다. 분쇄된 곡물의 분체는 여러 가지 크기의 입자로 구성되어 있으며 분쇄기의 종류 및 분쇄방법에 따라 입자 크기가 서로 달라지게 된다[49]. 분쇄된 엿기름의 입자크기는 입도 분포로서 표시하며 표준체를 사용하여 측정한 결과 시판 엿기름의 입자분포는 표 26과 같다. 시판 엿기름은 거의 대부분의 제품에서 40메쉬 이상의 입자들이 반 이상을 차지하여 대부분의 입자들이 상당히 크고 거친 것으로 조사되었다.

표 26. 엿기름의 제품별 입자크기 분포(%)

제품	체의 크기 (mesh)						
	+20	+40	+60	+100	+120	+140	- 140
A	77.9	10.6	4.5	2.2	0.5	1.0	3.0
B	24.4	32.3	17.1	7.1	1.2	3.4	12.4
C	60.4	14.9	6.8	3.3	0.7	1.8	11.2
D	62.7	18.2	6.3	1.8	0.3	1.9	8.0

17개 시판 엿기름 제품들의 효소력가는 DP 46 130。L, β-amylase 334 1158 Betamyl unit, α-amylase 25 172 Ceralpha unit의 범위로 효소력가가 전반적으로 낮았으며 제품에 따라 큰 변이를 보여 효소활성 측면에서 품질이 고르지 못한 문제점을 지니고 있었다(표 27).

표 27. 시판 엿기름 제품의 효소력가

제품	DP(。L)	β-amylase (Betamyl unit)	α-amylase (Ceralpha unit)
A	102	635	26
B	92	432	26
C	130	1158	165
D	89	831	89
E	64	669	97
F	69	530	34
G	95	726	118
H	40	334	39
I	57	568	70
J	66	392	79
K	57	487	79
L	92	728	100
M	66	461	37
N	80	812	172
O	55	458	25
P	46	384	43
Q	55	552	110
평균	74	597	77

* 엿기름 제품 (n=17)

엿기름의 입자크기와 효소력가와의 상호관계를 보다 명확하게 알아보기 위해 일부 시판 엿기름 제품들을 20, 40, 60, 100, 140 메쉬 체를 사용하여 입자크기별로 분획한 후 각각의 효소력가를 측정하여 본 결과는 표 28과 같다. 20 메쉬 이상의 거친 입자에서 효소력가가 가장 낮았으며 입자크기가 작아짐에 따라 증가하는 추세를 보였으나 140 메쉬 이하의 미세한 입자에서는 효소력가가 감소하였다. 엿기름의 입자크기는 엿기름에서 추출되어져 나오는 당화효소와 관련이 있어 효소력가 측면에서 60 140 메쉬 사이의 입도 분포가 가장 적합한 것으로 나타났다. 따라서 시판 엿기름 가루를 추가적으로 분쇄하여 큰 입자를 줄이면 효소력가를 다소 증진시킬 수 있다고 판단되었으며 20 메쉬 이상의 큰 입자를 줄이고 140메쉬 이하의 미분말을 제거함에 의해 손쉽게 엿기름의 효소력가 향상을 도모할 수 있는 방법이 제시되었다.

표 28. 엿기름 제품의 입자크기별 효소력가*

제품	체의 크기 (mesh)					
	+20	+40	+60	+100	+140	- 140
A	39.6	60.1	64.1	70.9	73.8	65.2
B	53.1	74.3	81.2	85.0	-	76.0
C	84.8	124.0	100.3	97.2	108.5	85.5
D	69.1	94.9	106.7	108.4	-	79.7

* DP(。L)

엿기름의 효소력가 향상을 위해 가정용 분쇄기를 사용하여 엿기름을 추가적으로 분쇄한 후 입자크기 분포와 효소력가를 측정한 결과는 표 29와 같다. 분쇄시간이 증가함(20 40초)에 따라 20 메쉬 이상의 아주 거친 입자들이 상당히 감소되었다. 시판 엿기름을 20 40초간 재분쇄함에 의해 약 40% 가량의 효소력가 증진을 도모할 수 있었다. 그러나 분쇄정도가 클수록 140 메쉬 이하의 상대적으로 미세한 분말이 증가하여 효소력가가 약간 감소하였다. Cyclotec sample mill을 사용하여 재 분쇄한 엿기름 가루의 입도 분포는 표 30과 같다. Cyclotec mill로 분쇄한 경우 엿기름 입자의 60% 이상이 200 메쉬 체를 통과하여 입자크기가 75 ㎛ 보다 작았다. 이 경우 입자크기가 작아짐에 따라 효소력가가 약간 감소하였다. 시판 엿기름은 재분쇄에 의해 20 메쉬 이상의 큰 입자를 줄이고 140 메쉬 이하의 미분말을 제거함에 의해 엿기름의 효소력가를 손쉽게 증진시킬 수 있는 방안이 제시되었다.

분쇄정도에 따른 엿기름의 입도분포가 엿기름의 β-amylase와 α-amylase의 효소활성에 미치는 영향을 조사하였다(표 31). 가정용 분쇄기를 사용하여 분쇄하였을때 분쇄시간이 증가함(20 60초)에 따라 입자 크기가 작아짐과 동시에 β-amylase의 활성과 α-amylase의 활성이 증가하였다. 엿기름의 입자크기에 따른 분획별 β-amylase의 활성을 측정한 결과(표 32)에서는 20 메쉬 이상에서 가장 낮았고 40 140 메쉬 사이에서 완만히 증가하였으며 140 메쉬 이하에서는 다소 활성이 떨어졌다.

표 29. 엿기름의 추가분쇄에 의한 입자크기 분포(%) 및 효소력가

분쇄시간 (초)	체의 크기 (mesh)							DP(。L)
	+20	+40	+60	+100	+120	+140	- 140	
0	62.7	18.2	6.3	1.8	0.3	1.9	8.0	61.02
20	20.3	29.3	16.8	6.3	2.7	5.2	18.5	87.48
40	11.7	26.0	18.9	7.7	3.6	6.9	24.6	86.76
60	7.2	22.0	19.3	8.6	4.2	7.8	29.7	86.70

표 30. Cyclotec sample mill에 의해 분쇄한 엿기름의 입자크기 분포(%) 및 DP

체의 크기 (mesh)								DP
+60	+100	+120	+140	+200	+270	+325	- 325	(。L)
9.4	12.2	3.8	9.2	18.7	40.0	2.3	2.5	83.7

표 31. 분쇄정도에 따른 엿기름의 입자크기 분포(%) 및 amylase 활성도

분쇄시간 (초)	체의 크기 (mesh) +20	+40	+60	+100	+120	+140	-140	Amylase β-	α-
20	35.32	38.45	11.70	4.65	0.90	1.94	4.94	1648	207
40	11.09	43.26	18.06	7.71	1.95	2.50	11.88	1842	238
60	3.33	41.96	20.77	9.17	2.24	2.81	15.75	1885	238

표 32. 엿기름의 입자크기에 따른 분획별 β-amylase 활성

	체의 크기 (mesh) +20	+40	+60	+100	+120	+140	-140
β-amylase	1525	1958	1832	1995	2305	2426	2375

2. 엿기름의 추출 및 당화

가. 엿기름의 추출

효소의 활성을 지닌 엿기름의 추출액을 제조하는 과정에서는 추출액량과 엿기름의 비율, 추출온도 및 추출시간 등이 매우 중요하다. 추출온도의 영향을 살펴보기 위하여 18, 30, 40℃에서 교반추출한 엿기름 추출액을 비교하였을 때 엿기름의 종류 및 추출시간과 추출온도에 따라 최종 추출액의 pH 에 차이가 있었으며 특히 추출온도가 높을 경우 추출시간에 따른 pH의 감소가 큰 것으로 보고된 바 있다[5].

표 33은 엿기름의 추출온도 및 추출시간에 따른 추출액의 DP를 측정한 결과이다. 20, 30, 40℃에서 증류수로 1 4시간 동안 추출한 엿기름 추출액의 DP를 측정한 결과 추출시간이 증가할수록 추출액의 DP는 증가하는 경향이었다. 추출온도에 따른 추출액의 DP는 20℃에 비해 그 이상의 온도에서 높았으나 30℃와 40 ℃ 사이에서는 크게 차이가 나지 않았다. 추출온도가 높아질 경우 추출시간의 경과에 따라 pH가 감소되어 주의할 필요가 있다고 하였다[50].

표 33. 엿기름의 추출온도 및 시간에 따른 추출액의 DP(。L)

추출온도 (℃)	추출시간(hr)			
	1	2	3	4
20	53.46	66.06	64.62	71.46
30	73.80	79.92	83.34	86.22
40	71.28	79.38	84.60	100.44

* 엿기름: 추출용수 = 1: 20

나. 엿기름의 당화

호화된 전분에 보리 엿기름 추출액의 amylase가 작용하여 전분의 분해가 이루어지는 당화공정은 식혜의 향미를 결정하는 주요한 공정이므로 효소활성도와 관련한 엿기름의 품질이 매우 중요하다. 또한 엿기름은 당화과정중 생성되는 감미와 식혜 특유의 풍미 및 색의 생성은 물론 산도가 낮아 품질면에서 우수하여야 하며 당화시간의 단축으로 시간과 자원을 절약성을 고려하여야 하므로 효소력가 뿐 만 아니라 적절한 당화조건의 관리가 필수적이다.

당화온도가 맥아의 당화효소에 미치는 영향[51]에 의하면 최적 당화온도는 40 60℃인 것으로 나타났으며 당화시간에 따라 당도는 증가되어 최종당화액의 당도가 12 18%에 달하였다. 밀, 쌀보리와 겉보리를 이용하여 제조한 엿기름에 함유되어 있는 amylase의 최적 반응온도을 알아보기위하여 30 70℃에서 amylase의 역가를 측정한 결과 50 60℃에서 최대의 amylase 역가를 나타내었다[52]. 또한 봄에 기른 엿기름가루는 55 60℃에서 당화력이 가장 높고 가을에 기른 엿기름가루는 40 50℃에서 당화력이 가장 높다고 보고한 바 있다.

그러나 일반적으로 당화시간이 길어짐에 따라 당화액의 pH가 감소하는 경향을 보여 일정시간 이상의 과도한 당화는 pH의 저하를 초래하여 식혜의 풍미를 현저하게 떨어뜨리므로 당화공정의 관리가 중요하다고 하였다. 당화시간이 증가할수록 pH와 산도는 서서히 감소하는 경향을 보였으며[52,53] 이는 유기산이 다소 생성되어 산도를 약간 증가시킨 것으로 판단되었다.

쌀, 물, 엿기름의 사용비율 및 당화온도에 따라 식혜의 특성이 달라질 수 있다[54]. 식혜의 제조조건으로는 이 등[54]은 쌀:물을 1:1.2로 제조한 밥에 20% 맥아 침지액을 사용하여 55 60℃에서 3시간 당화시키는것이 당화에 최적조건이라고 보고하였다. 햇엿기름으로 50℃에서 엿기름:물:쌀의 비율이 1:8:1 또는 2:12:1로 140 170분 처리하여 당도 14 17%인 것이 냄새, 맛, 색에서 가장 좋았다.

본 당화시험에서는 우선 엿기름의 양을 달리하여 40℃에서 2시간 동안 추출한

엿기름 추출액 A, B, C에 대하여 밥의 양을 달리하여 식혜를 제조하였으며 당화 시간별 당의 함량(%)을 굴절당도계를 사용하여 측정하였다(표 34). 추출용수에 대한 엿기름의 양이 증가할수록 엿기름 추출액의 당화력은 증가하는 경향을 보여주었다. 엿기름 추출액의 당화과정에서 밥의 양을 달리하였으며 전분질 원료인 밥의 양이 증가할수록 식혜의 당함량은 현저히 증가하여 밥의 함량이 1:3.3 비율에서 당의 함량이 가장 높았다. 밥의 함량이 높은 경우에 엿기름과 추출용수의 비율이 1:10 1:20 범위에서 엿기름의 양은 식혜의 당함량에 크게 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 따라서 이후의 식혜제조시 당화공정은 엿기름:추출용수의 비를 1:20으로 쌀:추출액의 비는 1:3.3으로 하여 실행하였다.

표 34. 엿기름 및 쌀의 양에 따른 당화시간별 식혜의 당함량(%) 변화

쌀:추출액	당화시간(hr)											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	24
A												
1:10	1.5	1.6	2.5	2.5	3.7	4.1	4.5	4.9	5.1	5.4	5.5	5.1
1:5	1.5	1.8	2.4	2.9	4.5	4.8	5.3	5.8	6.0	6.8	8.4	8.5
1:3.3	1.5	2.3	4.0	4.8	6.8	7.6	8.0	8.6	9.0	9.4	10.8	11.0
B												
1:10	0.9	1.2	1.9	1.9	2.6	2.9	3.3	3.5	3.9	4.3	4.5	4.6
1:5	0.9	1.6	2.0	2.2	3.0	3.4	4.4	4.4	5.2	5.4	7.1	7.8
1:3.3	0.9	2.1	3.2	3.7	6.2	6.5	7.0	7.6	8.2	8.9	10.0	10.1
C												
1:10		1.0	1.6	1.9	2.4	2.8	3.2	3.3	3.5	3.9	4.1	4.0
1:5		1.0	2.3	3.2	4.2	5.0	5.2	6.0	6.2	6.8	7.1	7.4
1:3.3		2.0	3.0	3.7	5.6	6.5	6.8	8.3	8.6	9.1	9.8	10.0

(A, 엿기름: 추출액 = 1:10 B, 엿기름: 추출액 = 1:15 C, 엿기름: 추출액 = 1:20)

엿기름의 품질이 식혜의 당함량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 시판 엿기름중 효소활성에 차이가 있는 두가지 엿기름을 사용하여 당화과정중 당의 함량을 측정, 비교하였다(표 35). 효소력가가 낮은 엿기름 A를 사용하여 당화시킨 당화액의 당함량은 매우 낮았으며 당화 4시간 후에 5.3%, 당화 8시간 후에 7.3%에 불과하였다. 반면에 효소력가가 상대적으로 높은 엿기름 B를 사용한 당화액

은 당화 5시간 후에 당함량이 10%에 도달하였고 그 이후에는 매우 완만한 증가 추세를 보여 당화초기에 당의 함량이 빠르게 증가하는 것으로 나타났다.

표 35. 엿기름별 당화액의 당함량(%) 변화

	당화시간(hr)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
엿기름 A	1.6	3.1	4.4	5.3	6.6	7.2	7.3	7.3
엿기름 B	3.0	3.7	7.7	9.1	10.3	10.7	10.8	11.0

* 엿기름 A, DP 92 ; 엿기름 B, DP 130

엿기름 가루의 입자크기는 엿기름에서 추출되어져 나오는 효소력가와 관련이 있으며 입자크기는 60 140 메쉬 사이가 적합한 것으로 조사된 바를 근거로하여 시판 엿기름가루로부터 체를 사용하여 40 메쉬 이상의 큰 입자를 제거하거나 시판 엿기름 가루를 좀 더 분쇄하여 40 메쉬 이상의 큰 입자를 줄인 엿기름 가루를 사용하여 당화과정중 당도변화를 살펴보았다(표 36). 시판되고 있는 원래 상태의 거친 입자들을 포함하는 엿기름에 비해 40 메쉬를 통과시킨 가루나 재분쇄하여 사용한 엿기름에서 당화액의 당도가 높게 나타났다. 시판 엿기름에서 문제가 되는 엿기름 추출액의 낮은 당화 효소력가를 부분적으로 개선하기위한 방안으로 엿기름 가루의 입자크기를 조절하는 것이야말로 현장에서 적용할 수 있는 매우 간단하고도 손쉬운 방법임이 자명한 것으로 나타났다.

표 36. 엿기름 처리구별 당화액의 당함량(%) 변화

	당화시간(hr)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
무처리	1.9	2.6	2.7	5.2	6.3	6.5	7.9	8.2
60메쉬 통과	3.3	3.8	4.8	6.6	7.5	8.2	8.5	8.9
재분쇄	2.4	3.8	5.0	6.8	7.6	8.2	8.5	9.0

품종별로 제맥기를 사용하여 제조한 엿기름의 당화공정에 의한 당함량을 분석하였다(표 37). 엿기름의 제조과정이 잘 조절된 제맥기를 사용하여 제조한 엿기름은 시판 엿기름에 비해 효소력가가 훨씬 높아 당화공정에 따른 당도가 높은 것으로 확인되었다. 시판 엿기름의 경우 당화 8 10시간까지 지속적으로 당도가 증가한 반면에(표 35) 제맥기에 의해 제조한 엿기름은 당화 1 2시간에 당도가 매우 급격히 증가하여 당화 3시간에 10% 이상이었으며 당화 4시간 이후에의 증가에 의한 변화가 아주 미미하여 2 3시간이면 대부분의 당화가 이루어짐을 알 수 있었다. 당화력이 높은 엿기름은 당화 초기에 당도가 매우 급격하게 증가하는 것으로 나타나 당화 4시간 이내에 당화공정을 종결할 수 있는 것으로 판단되었으며 당화공정시에 시간 및 에너지를 절약할 수 있는 긍정적인 효과를 주었다. 한편 품종별 엿기름 당화액의 당도에는 큰 차이가 없는 것으로 분석되었다. 제맥기에 의해 제조한 품종별 엿기름의 DP는 140 220。L범위로 시판 엿기름이 대부분이 100。L미만인 것을 고려할 때 당화시에 요구되는 엿기름의 효소력가는 DP 150。L이상인 것으로 제시할 수 있었다.

표 37. 엿기름 품종별 식혜의 당함량(%) 변화

품종	당화시간(hr)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
진양보리	1.8	6.5	9.0	10.4	11.0	11.3	11.4	11.4	11.4
강보리	1.9	6.9	9.2	10.5	11.1	11.4	11.6	11.7	11.7
새올보리	1.9	6.8	9.4	10.6	11.1	11.4	11.5	11.6	11.6
오월보리	1.8	6.4	9.3	10.5	11.1	11.5	11.6	11.6	11.6
새찰쌀보리	2.6	7.6	9.7	11.0	11.9	12.2	12.3	12.3	12.5

보리의 발아일수별로 제조한 엿기름으로부터 당화액의 당도를 측정한 결과는 표 38과 같다. 발아 2일된 보리로부터 만든 엿기름 시료는 효소력가가 낮았으며 당화 4시간 후에 6.5%, 당화 8시간 후에 7.2%의 매우 낮은 당도를 주었다. 이는 시판 엿기름중에 효소력가가 낮아 품질이 떨어지는 엿기름 시료와 유사하게 당도가 증가하는 추세를 보여주었다. 발아일수가 경과함에 따라 4일, 6일 발아된 보리의 경우 2일된 보리에 비해 당도가 현저히 높아져 당화 4시간 후에는 10% 까지 증가하였다. 특히 발아 6일된 보리로 만든 엿기름의 경우 대부분의 당화가 초기 1 3시간에 급격히 이루어져 매우 바람직한 것으로 나타났다. 발아일수에 따른 엿기름의 DP 수치는 발아 2, 4, 6일에 각각 69, 124, 201。L였으며 표 37에 나타난 바와 함께 분석한 결과 엿기름은 효소력가에 있어 DP 150。L 보다 높아야 하고 발아시기를 선택할 경우 발아 5, 6일 경에서 효소력가가 높아 당화력이 가장 우수한 것으로 나타났다.

표 38. 발아일수에 따른 엿기름에 의한 식혜의 당도변화

발아일수	당화시간(hr)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
2일	1.3	3.1	3.7	6.5	6.3	6.7	7.0	7.2
4일	2.8	2.9	8.7	10.7	8.7	9.5	9.7	10.0
6일	5.8	8.4	9.6	10.2	10.6	10.7	10.9	10.9

엿기름의 종류(겉보리, 쌀보리, 밀)를 달리하여 식혜를 제조하는 동안의 당도 변화에서[52] 당화초 1.8 2.4%의 당도에서 당화중기의 3시간 당화시 7.8 9.2%로 당도가 비교적 많이 증가하였으나, 당화말인 4시간 이후에는 당도의 증가폭이 서서히 감소하는 경향을 보여 6시간 당화시 10.4 11.3%의 당도를 보였다. 이는 설탕을 첨가하여 제조한 식혜의 당도가 11 16% 정도라는 안 등의 보고[55]와 비교시 전혀 당을 첨가하지 않은 상태에서 11%정도의 당도를 보임에 따라 비교적 높은 당도를 함유한 식혜가 제조되었다. 또한 식혜의 담금원료 및 담금방법에 따른 함유성분의 변화에 대하여 총당 및 환원당은 당화시간경과에 따라 증가하며 8시간 이후에 총당은 17.5 18.4%, 환원당은 8.9 15.0% 였으며 이들 함량은 코오지구, 혼용구, 맥아구 순으로 높았다.

엿기름만으로 당화시켰을 때 당화시간에 따른 glucose, maltose, maltotriose의 생성량은 당화시간이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였으며 maltose의 생성량은 glucose와 maltotriose에 비해 높았다[52]. 당조성중 맥아당이 약 50%를 차지했고 그외에도 포도당과 과당이 10% 정도, 삼당류 이상이 40% 정도 나타났다고 보고한[56] 바 있다. 황 등[57]은 엿기름으로 제조한 식혜는 maltose 함량이 전

체당 함량의 95% 이상으로 보고하였다. 당화액의 단맛이 glucose에 의하기 보다는 maltose에 기인함을 알 수 있고 안 등[55]도 식혜 특유의 시원한 단맛은 maltose에 기인한다고 하여 식혜의 당조성에서 maltose의 역할은 풍미효과를 주는 주된 역할이 있는 것으로 엿기름의 당화력가가 중요하다.

엿기름으로만 당화시킬 때 경우에 따라 당도가 낮을 수 있으며 음료로서의 기호성을 유지하기위해서 적어도 12 13 브릭스가 유지되어야 하므로 당도조절을 위해 가당과정이 필요하다고 하였다. 실제로 시중에 유통되는 식혜의 당함량은 맥아당 8.7%, sucrose가 88.7%인 것으로 보고하였다[57]. 남 등[58]은 고두밥과 엿기름 가루의 양을 달리한 식혜와 여러 가지 감미료를 사용한 식혜의 관능적 특성을 조사한 바 있다.

본 당화실험에 의하면 효소력가가 높은 엿기름의 사용에 의해 당화액의 당도를 개선할 수 있으며 식혜제조시에 최소한의 가당으로 식혜고유의 풍미를 살릴 수 있는 것으로 사료되었다. 궁극적으로 효소력가가 높은 엿기름 품종을 이용하거나 입자크기에 따른 효소력가가 높은 분획의 혼합사용하여 maltose의 함량을 높이고 식혜 특유의 풍미를 제공할 수 있는 것으로 평가되었다.

3. 엿기름의 포장 및 사용형태

엿기름의 포장 및 사용형태를 검토하기 위해 엿기름의 추출시 추출액의 분리를 용이하게 하기 위한 방법으로 종이봉지(tea bag)로 포장하여 추출한 추출액을 사용하였다. 엿기름을 tea-bag에 포장하여 사용하면 침지, 추출, 가라앉히기 등의 작업을 간단하게 할 수 있었다. 또한 당화액의 제조를 간편하게 하기위해 tea-bag을 사용하여 직접적으로 추출 및 당화공정을 동시에 시도해 보았다. 엿기름을 tea-bag에 넣어 추출한 후 그 추출액을 사용하여 당화시킨 경우(B)에는 재래식 방법(A)으로 추출한 것에 비해 당함량이 약간 떨어졌지만 그리 큰 차이

는 아니었다.

Tea-bag을 사용하여 엿기름의 추출 및 당화를 동시에 실시한 경우(C)에는 당화초기 1 4시간경 까지에는 재래식 추출 및 당화방법에 비해 당함량인 낮아 당함량에서 차이를 확인할 수 있었다. 이경우는 당화가 계속적으로 진행됨에 따라 당함량이 다른 방법과 유사한 경향을 보여주었다(표 39). Tea-bag을 사용한 엿기름의 추출법은 엿기름 추출액 분리를 용이하게 하여 엿기름 사용에 간편성을 제공할 수 있었다. 또한 tea-bag을 사용한 엿기름의 동시 추출/당화 방법은 비록 당화시간이 약간 길어지더라도 추출공정에 의한 시간절약을 감안할 때 효소력가가 높은 엿기름을 사용한다면 식혜제조를 간편화할 수 있는 방법인 것으로 사료되었다.

식혜의 제조시간을 단축시키고 감미도를 증진시키기 위해 α-amylase, glucoamylase를 첨가하여 당화를 촉진하여 당화액의 대부분을 단당류로 분해할 수 있었으며 육 등[56]도 당화시 α-amylase, glucoamylase를 첨가하여 당화를 촉진시키고 glucose isomerase를 첨가하여 glucose를 fructose로 전환시켜 감미도를 증진시킨 바 있다.

표 39. **엿기름의 포장 및 사용형태에 따른 당화액의 당함량**(%) **변화**

사용방법	당화시간(hr)						
	0	1	2	3	4	5	6
A	1.1	5.3	7.6	8.4	9.3	9.6	9.8
B	0.6	4.6	7.1	7.7	8.5	8.6	9.4
C	-	3.7	5.0	6.5	8.8	9.3	9.6

A, **엿기름 추출→추출액 여과→추출액→당화**
B, tea-bag **사용 추출→추출액→당화**
C, tea-bag **사용 동시 추출/당화**

참 고 문 헌

1. **농림수산부**: **농림수산통계연보** (1996)
2. MacGregor, A.W. and Fincher, G.B.: Carbohydrates of the barley grain. In "Barley: Chemistry and Technology" A.W. MacGregor and R.S. Bhatty, eds. Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN. (1993)
3. **최홍식**: **식품으로서의 보리의 가공특성 및 이용**. **식품과학**, 12, 51 (1979)
4. **허순범**: 93 **맥주보리 증산시책 추진**. **한국맥류연구회지**, p 35 (1993)
5. **한억**: **식혜의 산업화 현황과 전망**. **식품기술**, 8, 107 (1995)
6. American Association of Cereal Chemists: Approved Methods of the AACC: The Association: St. Paul, Minnesota (1983)
7. American Society of Brewing Chemists: Methods of Analysis, 7th ed., The Society, St. Paul, Minnesota (1976)
8. European Brewery Convention: Analytica 3rd ed., Schweizer-Brauerei Rundsch, Zurich (1975)
9. McCleary, B.V. and Glennie-Holms, M: Enzymatic quantification of (1→3),(1→4)-β-D-glucan in barley and malt. J. Inst. Brew., 91, 285 (1985)
10. McCleary, B.V. and Codd, R.: Journal of Cereal Science. 9, 17 (1989).
11. McCleary, B.V. and Sheehan, H.: Measurement of cereal α-amylase: A new procedure. Journal of Cereal Science. 6, 237 (1987)
12. McCleary, B.V. and Sheehan, H.: Assay of malt β-glucanase using Azo barley glucan: an improved precipitant. J. Inst. Brew. 93, 87 (1987).
13. Gothard, P. G.: A simple gel-diffusion assay of α-amylase in ungerminated wheat grains. J. Sci. Fd Agric. 27, 691 (1976)

14. Banasik, O.J., Myhre, D. and Harris, R.H.: A micro-malting method for nursery samples. Brewer's Digest (1956)
15. **이원종: 한국산 보리와 미국산 보리의 제맥특성. 한국농화학회지**, 32, 203 (1989)
16. Chan, H.Y. and Baker, C.W.: Influence of β-glucanase activity on malt modification. J. Am. Soc. Brewing Chemists, 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, MN 55121
17. Wainwright, T.: Update of β-glucans. Brewers Guardian, 119(1), 9 (1990)
18. Yin, X.S. and MaCgregor, A.W.: An approach to the identification of a β-glucan solubilase from barley. J. Inst. Brew, 95, 327 (1988)
19. McNeil, M., Albersheim, P., Tar, L. and Jones, R.L.: The structure of plant cell walls: VII. Barley aleurone cell walls. Plant Physiol. 55, 64 (1975)
20. Taiz, L and Honigman, W.A.: Production of cell wall hydrolyzing enzymes by barley aleurone layers in response to gibberellic acid. Plant Physiol. 58, 380 (1976)
21. Benjavongkulchai, E. and Spencer, M.S.: Purification and characterization of barley-aleurone xylanase. Planta, 169, 415 (1986)
22. Dekker, R.F.H. and Richards, G.N.: Hemicellulases: Their occurrence, purification properties and mode of action. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 32, 272 (1976)
23. Dashek, W.V. and Chrispeels, M.J.: Gibberellic-acid-induced synthesis and release of cell-wall-degrading endoxylanase by isolated aleurone layers of barley. Planta, 134, 251 (1977)

24. Henry, R.J.: Genetic and environmental variation in the pentosan and β-glucan contents of barley, and their relation to malting quality. J. Cereal Sci., 4, 269 (1986)

25. Lehtonen, M and Aikasalo. R.: Pentosans in barley varieties. Cereal Chem. 64, 133 (1986)

26. Benjavongkulchai, E.: Barley aleurone xylanase purification, characterization, synthesis and roles in cell wall degradation and some release. Ph.D. Thesis, University of Alberta, Edmonton, Alberta.(1987)

27. Chrispeels, M.J. and Varner, J.E.: Gibberellic acid-enhanced synthesis and release of α-amylase and ribonuclease by isolated barley aleurone layers. Plant Physiol., 41, 398 (1967)

28. Mundy, J. and Munck, L: Synthesis and regulation of hydrolytic enzymes in germinating barley. pp 139-148: New Approaches to Research on Cereal Carbohydrates. R.D. Hill and L. Munck ed., Elsevier Science Publishers B.B., Amsterdam (1985)

29. **김진구, 김순동, 김광수: 맥아제조시 적색조사광에 의한 α-Amylase 활성변화. 한국식품과학회지**, 17(4), 237 (1985)

30. Ballance, G.M., Meredith, W.O.S. and Laberge, D.E.: Distribution and development of endo-β-glucanase activities in barley tissues during germination. Can. J. Plant Sci., 56, 459 (1976)

31. Brunswick, P, Manners, D.J. and Stark, R.J.: Degradation of isolated barley endosperm cell walls by purified endo-(1→3)(1→4)-β-D-glucanase and malt extracts. J. Cereal Sci., 7, 153 (1988)

32. **김원일, 장현세, 박노동, 김광식: 재배환경이 맥주맥의 β-Glucan 함량과 β-Glucanase 활성에 미치는 영향. 한국농화학회지**, 29(3), 266 (1986)

33. Henry, R.J.: Changes in β-glucan and other carbohydrate components of barley during malting. J. Sci. Food Agric. 42, 333 (1988)
34. **농촌진흥청 작물시험장**: **농업과학기술 연구개발 시험연구보고서** (1994)
35. **이영택**, **이춘기**: **보리의 품종적 변이가 β-Glucan 및 맥아의 품질에 미치는 영향**. **한국식품과학회지**, 26(2), 172 (1994)
36. Etchevers, G.G., Banasik, O.J. and Watson, C.A.: A method for instrumental measurement of barley color. Cereal Chem., 53, 846 (1976)
37. Bhatty, R.S.: Physicochemical and functional(breadmaking) properties of hull-less barley fractions. Cereal Chem., 63(1), 31 (1986)
38. **신현국**, **김영상**, **배성호**, **김재욱**: **한국산 맥주맥의 맥아특성에 관한 연구**. **한국농화학회지**, 23(3), 150 (1980)
39. Briggs, D.E.: Barley, John wiley and Sons, N.J., p527 (1978)
40. Mathewson, P.R. and Pomeranz, Y.: Detection of sprouted wheat by a rapid colorimetric determination of α-amylase. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 60, 16 (1977)
41. Mathewson, R.R., Fahrenholz, C.H., Booth, G.D., Pomeranz, Y. and Miller, B.S.: Results of collaborative testing using a simple, rapid colorimetric alpha-amylase assay for evaluation of sprouted wheat. Cereal Chem. 59, 108 (1982)
42. McCleary, B.V.: Measurement of polysaccharide degrading enzymes using chromogenic and colorimetric substrates. Chemistry in Australia, 58, 398 (1991)
43. Kruger, J.E., Ranum, P.M. and MacGregor, A.W.: Note on the determination of α-amylase with Perkin Elmer Model 191 Analyzer. Cereal Chem. 56, 209 (1979)

44. Kruger, J.E. and Tipples, K.H.: Modified procedure for use of the Perkin-Elmer Model 191 Analyzer in determining low levels of α-amylase in wheats and flours. Cereal Chem. 58, 271 (1981)
45. O'Connell, B.T., Rubenthaler, G.L., and Murbach, N.L.: Evaluation of a nephelometric method for determining cereal α-amylase. Cereal Chem. 57, 411 (1980)
46. Campbell, J.A.: Measurement of alpha-amylase in grains. Cereal Food World, 24, 46 (1990)
47. Campbell, J.A.: A new method for detection of sprout damaged wheat using a nephelometric determination of alpha-amylase activity. 2nd Int. Sym. on Pre-harvest Sprouting Damage in Cereals, Cambridge, England. (1979)
48. Hsu, E. and Varriano-Marston, E.: Comparision of nephelometric and Phadebas methods of determining α-amylase activity in wheat flour supplemented with barley malt. Cereal Chem. 60(1), 46 (1983)
49. **이영택**, **석호문**, **조미경**, **김성수**: **제분방법에 따른 쌀보리가루의 이화학적 특성**. **한국식품과학회지**, 28, 1078 (1996)
50. **박은지**: **식혜의 표준규격**. **식품기술**, 8, 124 (1995)
51. **문수재**, **조혜경**: **식혜에 대한 조리과학적 검토**. **대한가정학회지**, 16, 43 (1978)
52. **서형주**, **정수현**, **황종현**: **쌀보리 겉보리 및 밀엿기름에 의한 식혜제조시 특성**. **한국식품과학회지**, 29, 716 (1997)
53. **김복선**, **이택수**, **이명환**: **식혜의 당화과정중 성분변화**. **한국산업미생물학회지**, 12, 125 (1984)
54. **이효지**, **전희정**: **식혜제조의 과학적 연구**. **대한가정학회지**, 14(1), 195 (1976)

55. **안용근, 이석건: 한국시판 식혜에 관한 연구. 한국식품영양학회지**, 22, 94 (1995)

56. **육철, 황윤희, 백운화, 박관화: 전분 분해효소 첨가와 종이봉지를 이용한 식혜의 제조 방법. 한국식품과학회지**, 22, 296 (1990)

57. **황종진, 손영구: 보리용도 다양화를 위한 가공이용기술. 한국맥류연구회지**, 4, 59 (1997)

58. **남상주, 김광옥: 재료의 양과 감미료를 달리한 식혜의 관능적 특성. 한국식품과학회지**, 21, 197 (1989)