

효소 및 아미노산 첨가에 의한 쌀 맥주의 품질 개선

권영안¹ · 이광근 · 홍광원 · 이승주*

¹우석대학교 외식산업조리학과, 동국대학교 식품생명공학과

Improving Qualities of Rice Beer Using Enzymes and Amino Acids

Young An Kwon¹, Kwang-Geun Lee, Kwang Won Hong, and Seung Ju Lee*

¹Department of Food Science and Culinary Art, WooSuk University
Department of Food Science and Biotechnology, Dongguk University-Seoul

Abstract

Various enzymes and amino acids were used to improve the quality attributes of beer brewed with rice adjunct. Alpha-amylase was applied to make more saccharification during the malting stage. Protease and amino acids, such as lysine, glutamic acid, and proline, were added prior to fermentation stage and the qualities of beer such as Brix, reducing sugar content, pH, and viscosity of the wort, were evaluated. The changes in the alcohol content, bubble stability, bitterness, and color of the beer were also investigated. Results showed that Brix, reducing sugar content, and viscosity of the wort were reduced, while the pH was increased in proportion to the rice powder content. It revealed that the liquefaction rate was decreased as the content of rice powder was increased. But the liquefaction rate was recovered by the addition of α -amylase. The alcohol content and bubble stability of beer were decreased while its bitterness and yellowness were increased in proportion to the rice powder content. While alcohol content, bitterness, and yellowness were recovered by the addition of protease, the bubble stability was reduced in spite of the use of protease. Other characteristics of the beer except yellowness color were recovered by the addition of glutamic acid. However, when lysine and proline were used, alcohol content and bitterness were recovered. The bubble stability and the turbidity of the beer were not improved although the amino acids were used. The rice beer quality was thus improved by the addition of amylase, followed by glutamic acid and protease.

Key words: beer, rice adjunct, amylase, protease, amino acids

서 론

경제적 발전과 국민 생활수준의 향상으로 국민의 취향이 고급화되고 수입물품 개방의 확대 등으로 쌀 소비의 감소로 공급은 유지 되고 있으나 소비가 줄어들면서 쌀 가격이 하락하게 되는 상황이 이르고 있다(Ann, 1998).

이렇게 공급량에 따라가지 못하는 소비량을 맥주의 부원료로써 쌀을 사용한다면 쌀의 소비량을 증가시키면서 다양한 맥주의 제조가 가능하므로 이를 위한 다양한 시도들이 있었다. 전통주의 소비 증가율이 둔화하는 추세에 있는데 비해 맥주의 소비는 증가 하는 추세이며, 기존의 전통적인 맥주에 기능성과 기호성을 부가한 맥주를 선호하는 사람들

이 늘어나는 추세이다(Kang et al., 2003). 이런 추세에 맞추어서 순수 보리만을 사용한 맥주가 아닌 다른 부산물을 첨가하여 기능성과 기호성을 높인 맥주를 제조하고자 하였다.

그런데 맥주의 맛과 질 등을 좌우하는 중요한 인자들 중의 하나가 맥즙의 품질이고, 맥즙을 제조하는 과정 중에 가장 기본이 되는 것은 당화이다. 왜냐하면 맥주의 제조과정 중 당화는 당화 정도에 따라서 당도가 결정이 되고 당도는 알코올 함량에 영향을 미치기 때문이다. 맥아의 당화는 맥아에 함유되어 있는 당화효소의 작용으로 당화에 크게 걸림돌이 되지 않지만 쌀을 부원료로 첨가한다면 당화에 영향을 미치게 된다. 쌀은 겨층을 도정하여 제거한 가공품이라고 볼 수 있다. 겨층에 당화효소가 함유되어 있는 쌀은 겨층을 제거함으로써 당화효소가 없어지게 되고 도정된 쌀 자체만으로는 당화를 할 수 없게 된다.

따라서 본 연구는 쌀을 맥주의 부원료로 첨가했을 때 당화의 최적화를 찾아내고, 최적화된 당화조건을 가지고 맥

*Corresponding author: Seung Ju Lee, Department of Food Science and Technology, Dongguk University, Seoul, 100-715, Korea
Tel: +82-2-2260-3372; Fax: +82-2-2260-3372
E-mail: Lseungju@dongguk.edu
Received March 27, 2012; revised April 20, 2011; accepted April 25, 2012

주를 제조하고자 하였다. 쌀의 첨가량에 따라 맥주의 품질에 미치는 영향을 알아보았으며, 쌀의 첨가로 부족한 당화효소를 보완하고자 amylase를 첨가한 경우와 protease를 첨가한 경우 맥주의 품질에 미치는 영향도 알아보려고 하였다. 또한 보리에 비해 쌀에 부족한 아미노산 첨가에 의하여 맥주에 미치는 효과도 알아보았다.

재료 및 방법

재료

맥주 양조에 사용한 쌀가루는 경기도 화성 남양농협 200 mesh 쌀분말 제품을 사용하였으며, 맥아가루(Pilsner종)와 hop은 오킴스브로이하우스(Seoul, Korea)에서 공급받아 사용하였다. 맥주효모는 비전마이오캡(Sungnam, Korea)에서 구매하여 사용하였다.

당화 및 단백질분해 효소로서 α -amylase(A6814, from *Bacillus species*, Sigma-Aldrich St. Louis, Mo, USA)와 neutral protease(Orientase, activity 100,000 U/g, from *Bacillus subtilis*, HBI Enzymes Inc., Osaka, Japan)를 각각 사용하였다.

효모의 영양요구량에 맞는 단백질로 맥아에 비하여 쌀에 부족한 아미노산인 라이신(쌀 내 함량 : 보리 내 함량 = 250 : 382), 글루타민산(쌀 : 보리 = 1300 : 2579), 프롤린(쌀 : 보리 = 310 : 1271)를 선별하여 Sigma-Aldrich사로부터 구매하여 사용하였다.

맥주 양조

250 mL 삼각플라스크에 물 70 mL와 200 mesh 쌀가루를 각각 5.2 g, 6.5 g, 7.8 g, 9.1 g을 넣고 잘 섞어준 후에 70°C로 설정되어 있는 shaking water bath에 넣고 120 rpm으로 20분간 호화시켰다. 맥아의 효소 불활성화를 방지하기 위하여 70°C를 유지하고 있는 shaking water bath의 온도를 50°C로 낮춘 후에 맥아를 첨가하였다. 쌀가루 5.2 g의 호화액(물 70 mL)이 담긴 삼각플라스크에 맥아가루 7.8 g을 첨가하여 총 고형분량이 13 g인 쌀 함량 40% 맥아즙을 만들었다. 같은 방법으로 쌀 함량 50%, 60%, 70%의 맥아즙을 제조하였다. 또한 대조구로서 맥아가루 13 g과 물 70 mL의 맥아즙을 준비하였다.

상기 제조된 맥아즙이 담긴 삼각플라스크를 shaking water bath에서 50°C, 15분간 유지하였다. 이는 맥아의 전분, 텍스트린, 소당류 등이 용출되어 가수분해효소가 잘 작용할 수 있는 당화에 적합한 환경을 만들어 주기 위함이다. 계속해서 shaking water bath의 온도를 62°C로 승온시킨 후 90분간 지속하여 실질적인 당화과정을 거쳤다. 이 모든 과정이 끝나면 삼각플라스크가 담겨있는 shaking water bath의 온도를 75°C까지 승온하여 맥아 자체에 있는 효소를 불활성화시켜서 계속적으로 당화가 이루어지지 않도록 하였다.

쌀과 효소를 첨가한 맥아즙을 제조하였다. 상기와 같은 방법으로 70 mL의 물이 담긴 삼각플라스크에 쌀가루를 각각 5.2 g, 6.5 g, 7.8 g, 9.1 g을 담은 후 70°C의 shaking water bath에서 120 rpm으로 20분간 호화시켰다. Shaking water bath의 온도를 50°C로 낮춘 후에 위의 실험과 동일한 비율로 맥아가루를 첨가하였고 13 g의 맥아가루를 70 mL의 물이 담긴 삼각플라스크에 첨가하였다(5 가지 당화조건). 이때 쌀가루가 첨가된 삼각플라스크에는 쌀가루의 전분이 잘 가수분해 되도록 0.013 g의 α -amylase를 녹인 4 mL의 0.5 M phosphate buffer(pH 6.9)를 첨가하였다. 50°C의 shaking water bath에서 15분간 유지하였으며 온도를 62°C로 승온하여 90분간 당화과정을 거쳤다. 그 후 75°C까지 승온하여 맥아 자체의 효소와 인위적으로 첨가한 α -amylase를 불활성화시켰다.

또한 α -amylase의 양에 따른 효과를 보기 위하여 쌀 혼합은 50%로 고정하고 효소는 0.013 g, 0.026 g, 0.052 g, 0.104 g, 0.208 g의 5 가지 수준으로 달리하여 같은 방법으로 당화시킨 후 불활성화시켰다.

여과를 거친 당화액을 100°C에서 15분간 끓인 후 bitter hop를 넣고, 계속해서 70분간 끓인 후 aroma hop를 넣고 상온에서 냉각하였다. 효모와 함께 소형 맥주 발효기에서 15°C에서 7일간 발효하였다. 2°C에서 3일간 추가적으로 발효를 하여 맥주를 제조하였다. 여기에 protease나 아미노산을 추가할 경우에는 효모와 함께 첨가하였다.

당도 및 환원당

여과를 거친 당화액을 20°C로 일정하게 유지시켜서 당도계(Master-M, Atago, Tokyo, Japan)로 당도를 측정하였다. 환원당 측정은 여과를 거친 당화액 1 mL를 10 배 희석된 DNS 용액 3 mL에 혼합하여 5분간 100°C에서 가열하였다. 가열된 시료의 온도를 상온(25°C)까지 낮추어 UV/VIS spectrophotometer(Optizen 2120, Mecasys, Seoul, Korea)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

pH

여과를 거친 당화액의 온도를 25°C로 유지시킨 후에 pH meter(SevenMulti pH, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 pH를 측정하였다

점도

여과를 거친 당화액의 점도를 항온 수조에 설치된 모세관 점도계(Ostwald type model 70, Nexus technology, Seoul, Korea)를 사용해서 25°C에서 측정하였다.

알코올 함량

맥주의 밀도는 부피에 대한 무게로 측정하였다. 밀도로부터 아래와 같은 식(1, 2)에 의하여 알코올 함량(v/v)을

산출하였다.

$$\rho_{\text{mixture}} = \frac{\rho_{\text{water}} V_{\text{water}} - \rho_{\text{EtOH}} V_{\text{EtOH}}}{V_{\text{mixture}}} \quad (1)$$

$$\frac{V_{\text{EtOH}}}{V_{\text{total}}} = \frac{\rho_{\text{mixture}} - \rho_{\text{water}}}{\rho_{\text{EtOH}} - \rho_{\text{water}}} \quad (2)$$

거품 안정성

하부에 cock이 있는 유리 칼럼(높이 250 mm, 직경 50 mm)을 사용하였다. 시료 50 mL를 붓고 30 초 후에 거품 이외의 하층액을 cock을 열어 제거한 후 cock을 다시 막았다. 그 후 230 초간 거품이 깨지는 시간을 허용하여 깨진 거품 양(b)과 남은 거품 양(c)을 측정하여 다음과 같은 식 (3)으로 거품 안정성(sigma, Σ)을 산출하였다(Ratnavathi et al., 2000).

$$\Sigma = \frac{230}{2.303 \log \left[\frac{(b+c)}{c} \right]} \quad (3)$$

쓴맛

맥주를 거품의 손실이 없도록 가스를 제거하여 20°C로 조절하고 10 mL를 원심관에 취한 후 6 N 염산 0.5 mL, 이소옥탄 20 mL를 가하여 밀봉한 다음 진탕기를 250 rpm에서 15분간 흔들었다. 3000 rpm에서 3분간 원심분리 후 이

소옥탄 층을 10 mm 셀에 취해 순수한 이소옥탄을 대조로 275 nm에서 흡광도 A를 측정하였다(AACC, 2000).

$$\text{Bitterness} = \sigma_0 \times A \quad (4)$$

색도

맥주 1 mL를 vial에 넣고 특수하게 제작된 holder에 삽입하고 일정한 환경조건 하에서 색도계(CR-300, Minolta, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 먼저 관능적으로 관찰한 결과 밝기와 노란색의 차이를 보이는 것으로 나타나 L(lightness)과 b(yellowness)의 값을 측정하여 정량적으로 나타내었다.

결과 및 고찰

아밀리아제 첨가의 효과

쌀 첨가량에 대한 효과

쌀을 첨가한 맥아즙의 당화능력을 향상시키기 위하여 효소(α-amylase)를 일정하게 0.013 g을 첨가하였다. 효소를 첨가했을 때 나타나는 값들은 무 첨가에 비하여 pH, Brix, 흡광도, 점도 모두 증가하는 경향을 보였다. 하지만 쌀 첨가량에 따른 변화 양상은 무 첨가의 경우와 동일하였다. 이는 식혜의 당화과정 중 성분 변화나 연료용 알코올 생산을 위한 타피오카 전분의 액화 및 당화에서의 경향과 잘 일치함을 보여준다(Kim et al., 1984; Kim & Park, 1995).

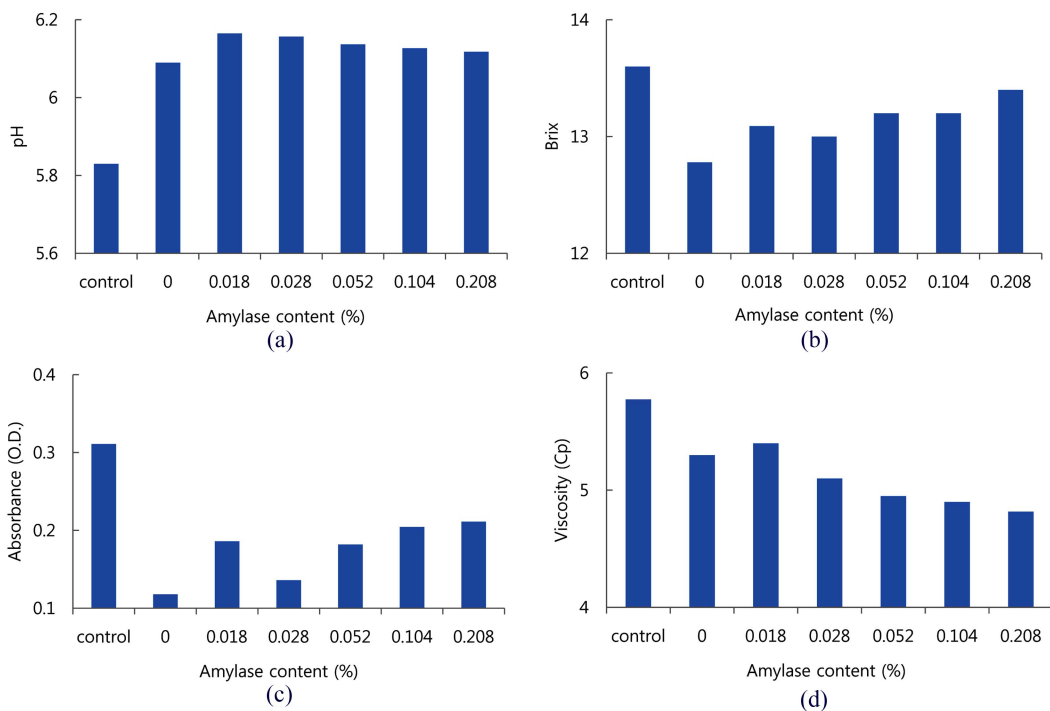


Fig. 1. The changes of wort with amylase ; (a) pH, (b) Brix, (c) absorbance, (d) viscosity, control: 100% malt.

pH의 경우 효소 첨가에 의하여 당화가 더 잘 되었을 것으로 예상하여 이에 따라 pH가 낮아질 것으로 예상하였다. 이는 압출조리를 이용한 쌀 이유식 제조에서 아밀라아제를 첨가했을 때 물성변화에서 pH가 낮아졌기 때문이다(Lee et al., 1994). 그러나 pH가 더 높아진 것은 효소와 함께 투여된 buffer용액의 효과로 추측된다. 즉, 본 실험에서는 약 90 분 당화시킨 것으로 당화로 인한 pH 값 감소보다 buffer의 pH에 더 많은 영향을 받아 오히려 pH가 높았다. 따라서 당화시간을 연장한다면 효소에 의한 당화로 buffer의 효과가 배제될 것으로 추측된다.

그 밖에 Brix, 흡광도, 점도의 결과는 모두 효소 첨가에 의하여 당화가 더 촉진되었음을 뒷받침한다.

효소 첨가량의 효과

쌀 50% 배합에 효소의 첨가량을 달리하여 당화력을 알아보았다. 효소 첨가량이 증가할수록 pH는 점차 감소(Fig. 1(a))하였고, Brix(Fig. 1(b))와 흡광도(Fig. 1(c))는 증가하는 경향을 보였다. 점도(Fig. 1(d))는 오히려 낮아지는 경향을 보였다.

효소 첨가량에 따라 pH가 낮아지는 것은 buffer에 의하여 높아진 pH가 효소 첨가량 증가에 의하여 당화가 촉진되어 점차 낮아진 것으로 보인다. Brix와 흡광도가 증가하는 경향을 보이는 것도 효소 첨가에 의하여 당화가 촉진되었음을 보여준다. 이는 반고형 이유식 개발 시 변형 쌀가루 제조에서 보여주는 이화학적 특성과 일치하였다(Choi & Sohn, 1997). 이는 원료백미의 분쇄 정도가 무증자 당화

탁주의 발효에 미치는 영향(Lee & Park, 1995)이나 감자를 이용한 알코올 발효를 하기 위한 액화 및 당화 조건(Jeong et al., 2000)에서 보여주는 경향과도 일치한다. 점도는 기대와 달리 오히려 감소되었는데, 이는 효소 첨가에 의하여 가용성 당의 분자량이 작아진 효과가 당 농도 증가 효과를 지배하기 때문으로 짐작되나 이에 대한 추가적인 연구가 요구된다.

프로테아제 첨가의 효과

발효 중에 프로테아제를 넣어 준 맥주는 과도하게 단백질이 분해가 되어 거품안정성이 매우 낮아졌다(Fig. 2(a)). 하지만 프로테아제를 사용하였을 때 알코올 함량은 증가하는 경향을 보였다(Figure 2(b)). 이는 첨가된 프로테아제에 의해서 효모가 이용할 아미노산을 생성하는데 기여하기 때문으로 판단된다. 이는 *Aspergillus niger*를 이용한 생전분의 당화와 주정발효에서 *Aspergillus niger*가 생성하는 전분 및 단백질 분해효소에 의해서 보이는 결과와 유사하다(Han & Chung, 1985). 이는 또한 Park et al. (2004)이 보고한 묵은 쌀(古米)을 사용한 탁주의 발효 특성이나 맥아 당화액을 이용한 유산균 음료의 제조에 관한 연구(Lee et al., 1998)에서도 비슷한 경향을 보여주고 있다. 프로테아제를 첨가한 맥주는 낮은 bitterness를 보였다(Fig. 2(c)). 이는 효소 첨가로 인하여 생성된 당 함량 증가와 함께 단백질 분해로 인하여 쓴맛이 상쇄되는 것으로 보인다. 맥주의 노란색은 감소하였는데(Fig. 2(d)), 이는 첨가된 단백질 분해 효소가 색소 성분도 같이 분해하는 것으로 생각되나 이에

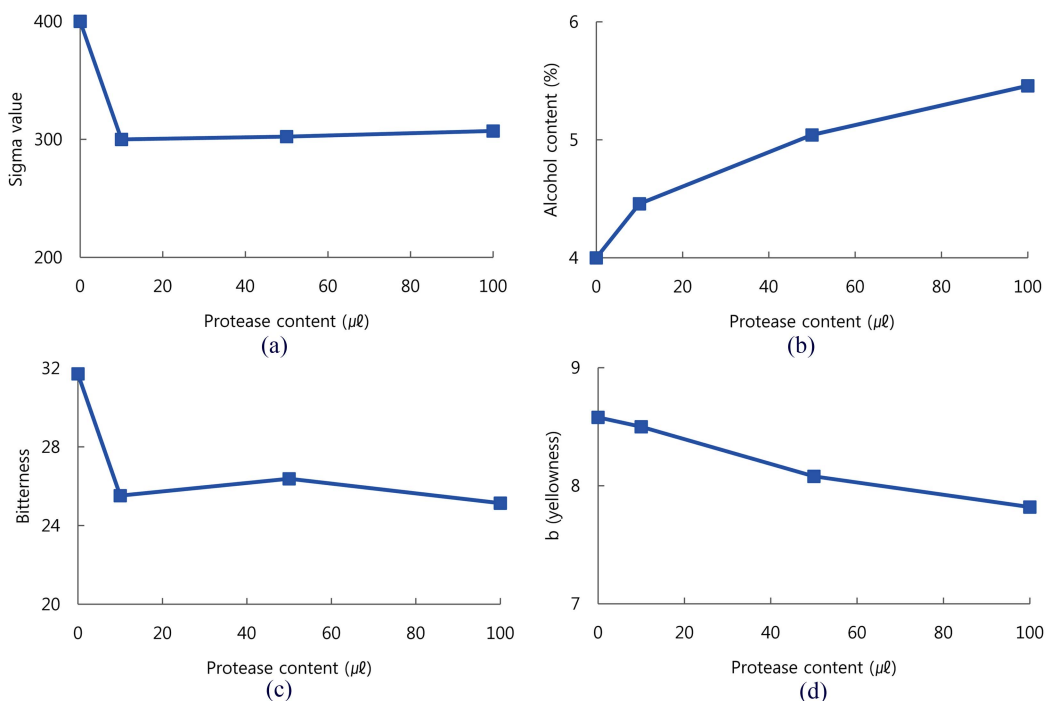


Fig. 2. The changes of rice beer with protease; (a) sigma value, (b) alcohol content, (c) bitterness, (d) yellowness.

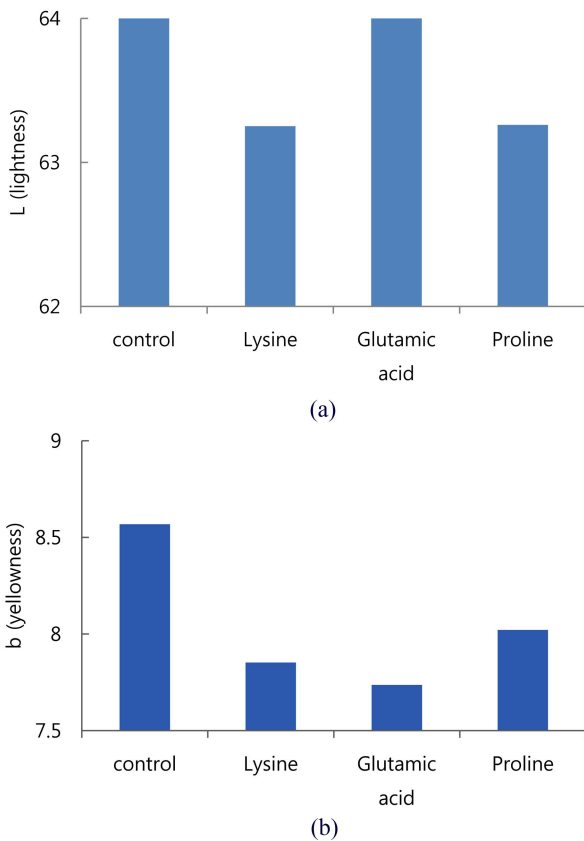


Fig. 3. The color changes of rice beer with different amino acids; (a) lightness, (b) yellowness, where the control is rice beer without any amino acid.

대해서도 추가적인 연구가 필요해 보인다.

아미노산 첨가의 효과

맥아에 비하여 쌀에는 효모의 영양요구량에 맞는 단백질이 부족하므로, 부족한 아미노산인 라이신(쌀 내 함량 : 보리 내 함량 = 250 : 382), 글루타민산(쌀 : 보리 = 1300 : 2579), 프롤린(쌀 : 보리 = 310 : 1271)을 선별하여 맥주의 제조 중 첨가하여 사용하였다. 효모의 영양요구량에 맞는 단백질을 발효 중 첨가하였을 때, 눈으로 관찰한 결과 lysine, proline을 첨가한 맥주는 뿌옇고 맥주 빛이 약했다. 특히 lysine을 첨가한 맥주가 가장 뿌옇게 보였다. 이에 반하여 glutamic acid를 첨가한 맥주는 맑고 맥주 빛이 강하였다 (Fig. 3). 따라서 쌀 맥주 제조 시 glutamic acid를 넣으면 뿌옇게 변하는 것을 막고 맥주 빛이 강하며 영양소가 보강된 맥주를 제조하는 것이 가능할 것으로 생각된다.

Glutamic acid를 첨가한 맥주는 control보다 거품 안정성도 향상되었다(Fig. 4(a)). 나머지 아미노산들은 첨가로 인하여 오히려 거품 안정성이 떨어졌다. 아미노산을 첨가한 맥주는 모두 쓴맛이 대조구보다 약하게 나타났다(Fig. 4(b)). 알코올 함량도 아미노산 첨가에 의하여 증가하였다

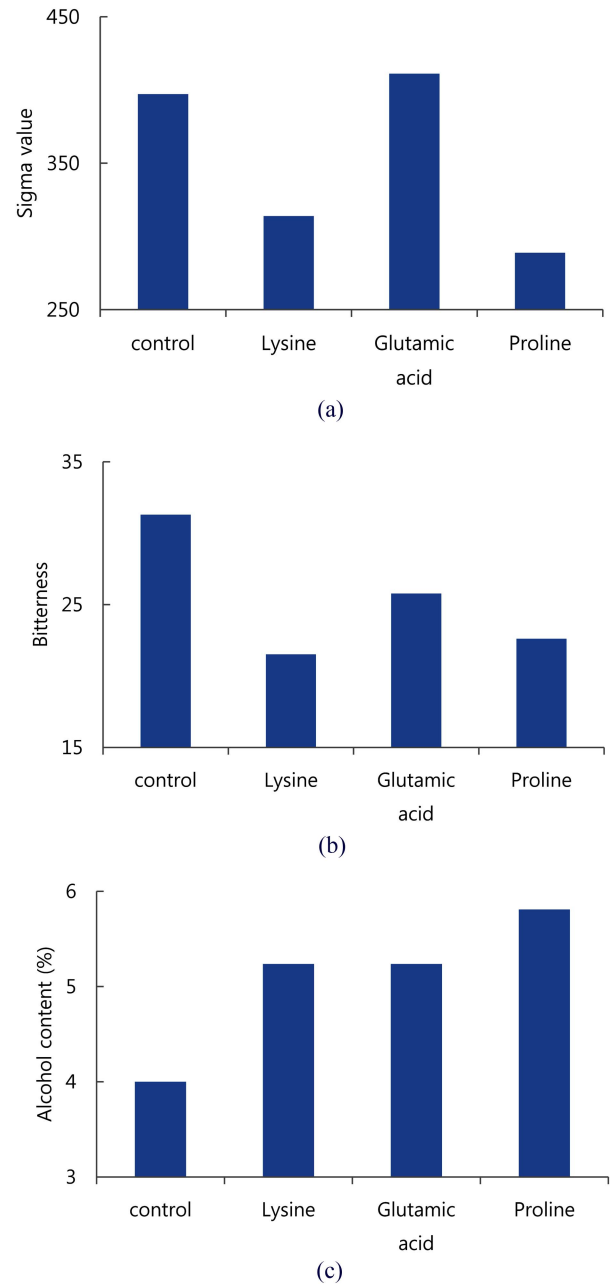


Fig. 4. The changes of rice beer with different amino acids; (a) sigma value, (b) bitterness, (c) alcohol content, where the control is rice beer without any amino acid.

(Fig. 4(c)).

요 약

본 연구는 쌀을 다량 첨가하여 양조한 맥주의 품질개선을 위하여 아밀라아제, 프로테아제, 쌀에 결핍된 아미노산의 첨가를 시도하여 그 품질 개선의 효과를 분석하였다. 품질 요소는 당화액인 wort의 당도, 환원당, pH, 점도의

변화를 측정하였고, 최종 제품인 맥주의 알코올 함량, 거품 안정성, 쓴맛, 색도의 변화를 측정하였다. 실험에는 200 mesh의 쌀가루를 맥아와 쌀가루의 총량에 대하여 0, 40, 50, 60, 70%를 첨가하였다. 실험 결과 쌀 함량이 증가함에 따라 wort의 당도, 환원당 및 점도는 감소하였고, pH는 증가하여 당화력이 떨어졌다. 그러나 아밀라아제 첨가에 의하여 당화력이 다시 회복되었기 때문에 아밀라아제 첨가로 쌀맥주 제조 및 제품의 성능이 향상되는 결과를 보였다. 쌀 함량 증가에 따라 맥주의 알코올 함량 및 거품 안정성은 감소하였고, 쓴맛과 노란색이 증가하였다. 그러나 프로테아제 첨가에 의하여 알코올 함량, 쓴맛 및 노란색은 다시 회복되었으나 거품 안정성은 더욱 감소하였다. 글루타민산의 첨가에 의하여 노란색 외의 성질은 모두 회복되었다. 그러나 라이신 및 프롤린의 첨가에 의하여 알코올 함량 및 쓴맛은 회복되었으나 거품 안전성이 낮아지고, 색이 비정상적으로 탁하게 나타났다. 결과적으로 쌀 첨가 맥주의 품질향상 인자는 아밀라아제의 첨가, 글루타민산의 첨가, 프로테아제의 첨가의 순으로 결정되었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(106018-2) 연구결과의 일부로서 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Ann YG. 1998. Sugars in Korean and Japanese beer - 2. Enzymatic analysis. *Korean J. Food Nutr.* 11(2): 150-158.
- Kang MH, Choi CS, Chung HK. 2003. Physical properties and antioxidant activities of *Lycii fructus* beer. *Korean J. Food Culture* 18(6): 569-574.
- Choi JS, Sohn KH. 1997. Physicochemical properties of modified rice powder for rice-based infant foods - Thermal-enzymatic treatment on rice powder. *Korean J. Dietary Culture* 12(4): 375-382
- Han MS, Chung DH. 1985. Saccharification and ethanol fermentation from uncooked starch using *Aspergillus niger* koji. *Korean J. Food Sci. Technol.* 17(4): 258-264.
- Jeong YJ, Seo JH, Yoon SR, Lee JM, Lee OK, Bang KW. 2000. Liquefaction and saccharification condition of potatoes for alcohol fermentation using potatoes. *Korean J. Post-Harvest Sci. Technol. Agri. Products* 7(1): 94-98.
- Kim BS, Lee TS, Lee MW. 1984. Changes of component in Sikhei during saccharification. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 12(2): 125-129.
- Kim KH, Park SH. 1995. Liquefaction and saccharification of tapioca starch for fuel ethanol production. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 10(3): 304-316.
- Lee GG, Kim JY, Lee CH. 1994. Studies on the effects of amylase addition to rice extrusion on the rheological properties of the extrudate for weaning food base. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26(6): 670-678.
- Lee JY, Mook CG, Park JH, Jang HK, Goo DJ. 1998. Optimal preparation of saccharified rice solution for *Bifidobacterium* fermentation. *Agr. Chem. Biotechnol.* 41(7): 527-532.
- Lee SA, Park HD. 1995. Effect of ground rice particle size on the brewing of uncooked rice Tackju. *Korean J. Post-Harvest Sci. Technol. Agri. Products* 2(2): 269-276.
- Park JH, Bae SM, Yook C, Kim JS. 2004. Fermentation characteristics of Takju prepared with old rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36(4): 609-615.
- Ratnavathi CV, Bala Ravi S, Subramanian V, Rao NS. 2000. A study on the suitability of unmalted sorghum as a brewing adjunct. *J. Institute Brewing* 106(6): 383-387.