

오존 및 광선의 처리가 맥아 효소활성에 미치는 영향

김혜정 · 이정호 · 최성현 · 권병구 · 오만진[†]

충남대학교 식품공학과

Effects of Ozone and Light Illumination on the Enzymatic Activity of Malt

Hye-Jeong Kim, Jeong-Ho Lee, Seong-Hyun Choi, Pyoung-Koo Kwon and Man-Jin Oh[†]

Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

Abstract

In order to increase the enzymatic activity of malt used as a source of traditional processing foods, the enzymatic activities of various barley were examined and the effects of ozone and light illumination treatment on the enzymatic activities of α -amylase, β -amylase, and β -glucanase in malt during manufacture were also examined. Barley didn't show α -amylase activity prior to soaking, but the activity of barley increased quickly after soaking. Glutinous barley showed the highest α -amylase activity among Duru barley, Ol barley, two-rowed barley and naked barley. Naked barley showed the lowest activity. The β -amylase activity was the highest in Duru barley and decreased in the order of in glutinous barley, naked barley and two-rowed barley. It was showed that the enzymatic activity of malt was higher than that of control when malt was soaked for 24hr at the concentration of 0.3ppm of ozone. The enzymatic activity of malt treated with light illumination was higher than that of control. The bud and root of light-illuminated malt was much stronger than that of control. The root of light-illuminated malt was much shorter than that of control. In addition, light-illuminated malt showed a little green color which matches the demand of consumer. These studies demonstrated that both ozone and light illumination treatment increased the enzymatic activity of malt to result in high quality of malt manufacture.

Key words: ozone, light illumination, malt, enzymatic activity

서 론

麥芽는 amylase의 주요한 공급원으로서 물엿, 식혜, 맥주, whisky, 장류의 제조와 소화제로서 오랜 옛날부터 널리 사용되어 오고 있다. 전통식품인 엿, 식혜, 장류 등을 제조할 때 맥아 기원의 효소로 제조하면 맛, 향기 등이 우수할 뿐 아니라 가정에서도 손쉽게 식품 제조에 이용할 수 있어 맥아의 수요가 날로 증가하고 있으며 양질의 가공식품을 제조하기 위해서는 고품질의 맥아가 요구되고 있다.

맥아는 제조과정 중 보리 배유분의 저장전분이 분해되지만 발아과정중 α -amylase, protease, β -glucanase가 합성되며 β -amylase도 활성화되는 것으로 알려져 있다(1).

보리 발아과정중 생성되는 α -amylase는 원료 보리

에서는 검출되지 않으나 발아과정 중에 합성되며 보리가 발아할 때 胚에서 gibberellin 유사물질이 생성되어 배유에 이송되면서 α -amylase 및 β -amylase의 활성화 및 생성을 촉진시킨다고 하였다(2).

β -Amylase는 Meyer 등이 결정으로 분리한 이래 많은 연구를 수행하여 왔으며(3,4), Hejgaard 등(5,6)은 원료 보리중의 β -amylase는 유리형과 결합형의 두 종류로 존재하며 발아과정 중에 결합형의 β -amylase는 cysteine과 같은 환원제나 단백질 분해효소 작용에 의하여 효소가 활성화된다고 하였다. 또한 Rowe와 Well(7)은 보리의 β -amylase활성이 ascorbic acid에 의하여 저해된다고 하였다.

β -Glucanase는 열안정성이 낮으며, pH 4에서 안정하고, 환원된 glutathione이 활성을 유지시킨다고 하였다(8).

[†]To whom all correspondence should be addressed

맥아 제조시에 보리 성분을 효율적으로 이용하고 고품질의 맥아효소를 제조하기 위하여 拔根을 억제하는 방법으로 gibberellic acid 처리, ammonia를 처리하는 방법이 시도되었으며 발아, 발근 목적으로 무발아 맥아 제조시험을 행하기도 하였다(9). Kim과 Kim(10)은 보리에 저선량의 T선을 조사하여 맥아를 만들어 효소의 활성을 측정하고 결과 맥아 역가에 현저한 증대 효과를 나타내었다고 보고하였으며, Kim 등(11,12)은 맥아제조시 적색광 조사에 의한 α -amylase의 활성변화에 대하여 보고한 바 있다.

또한 Lee 등(13)은 맥주보리를 이용하여 맥아 품질 검정 체계 확립을 목적으로 맥아 제조조건, 엿기름 성력가공방법, 보리 품종별 효소역가와 수율에 대하여 보고하였다.

본 실험에서는 보리 품종별 효소 역가를 비교하고 맥아의 효소 역가를 향상시킬 목적으로 보리를 침지 또는 발아하면서 오존 및 광선을 처리하여 α -amylase, β -amylase, β -glucanase의 활성을 측정하고 결과를 얻었으므로 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

맥아 제조용 보리는 1995년산 보리를 공시재료로 하였다.

맥아 제조

보리에 5배량의 지하수를 가하여 침지하면서 12시간마다 환수하고 보리를 건져내어 물기가 빠지게 한 후 밀 부분에 구멍이 있는 발아상에 3cm 두께로 담아서 21°C, 95%의 항온항습기에서 6~8일 동안 발아시켰다. 발아 중의 보리가 서로 엉킴을 방지하기 위해 1일 3회씩 간헐적으로 섞어 주었으며, 발아기간 중에 맥아가 건조하지 않도록 간헐적으로 지하수를 뿌려 주었다.

오존 및 광선처리

울보리를 공시재료로 하여 증류수에 24시간 침지한 후 오존발생장치(신성기연, 한국)를 사용하여 0.3ppm의 오존수에 24시간 동안 더욱 침지하여 발아시켰으며 발아 3일, 5일에 침지시와 같은 농도의 오존수로 수분을 충분히 공급하면서 발아과정 중 효소 활성을 측정하였다.

광선 조사는 보리에 5배량의 21°C 지하수를 가하여 12시간마다 환수하면서 48시간 동안 침지한 후, 물에 적신 여지 3장을 간 petri dish에 보리알갱이의 고랑이

밑으로 가도록 배열하여 고르게 펴서 21°C, 95%의 항온항습기에서 발아시키면서 발아 2일부터 6일까지 하루 4시간씩 2,500Lux의 광선을 조사시켰다. 무처리구는 petri dish를 aluminum foil로 싸서 처리구와 함께 광선 조사기에 넣어 실험하였다.

β -Glucan 측정(14)

β -Glucan함량은 McCleary와 Glenne-Holm의 효소적 방법에 의하여 β -glucan assay kit(Megazyme Pty, Ltd., Australia)을 사용하여 측정하였는데, β -glucan으로부터 분해된 glucose의 함량은 Megazyme glucose test kit를 사용하여 분석하였다.

효소 활성 측정

조효소액 조제

싹과 뿌리를 제거한 생맥아 1g에 0.2M acetate buffer (pH 4.8) 20ml를 가하고 균질기로 15,000rpm에서 5분간 파쇄하고, 3,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 상정액을 조효소액으로 하였다.

α -Amylase(15) 활성측정

2% 가용성 전분용액(0.2M acetate buffer, pH 4.8에 1mM의 *p*-chloromecuribenzoic acid 함유(11,16)) 1ml를 가하여 30°C에서 5분간 가온한 후 조효소액 1ml를 가하고, 항온수조에서 30°C, 30분간 반응시켰다. 반응액 0.5ml를 시험관에 취하고 0.5M acetic acid 10ml를 가하여 1/300N 요오드화액 1ml와 증류수 5ml를 넣고, 620nm에서 흡광도를 측정하고 가용성 전분의 표준곡선을 작성하여 전분의 mg/ml 농도를 구하였다. 효소 단위는 생맥아 1g이 30°C에서 1분간에 분해한 가용성 전분 mg수로 표시하였다.

β -Amylase 활성 측정

1% 가용성 전분용액(0.2M acetate buffer, pH4.8) 1ml를 시험관에 취하고 항온수조에서 30°C로 예열한 후 조효소액 1ml를 가하여 30°C, 30분간 반응시키고 반응액 중 maltose량을 dinitrosalicylic acid법(17)으로 측정하였다. 효소 반응액 0.5ml에 dinitrosalicylic acid 용액 5ml를 혼합하고 100°C, 10분간 가열한 후 급히 냉각하여 570nm에서 흡광도를 측정하여 maltose를 정량하였다. 효소 단위는 생맥아 1g이 30°C에서 1분간에 1mg의 maltose를 유리하였을 때 1단위로 하였다.

β -1,3-Glucanase 활성 측정(18)

1% laminarin용액(0.1M succinate buffer, pH5.8) 1ml를 시험관에 취하고, 조효소액 1ml를 가하여 40°C에

서 10분간 반응시켰다. 반응액중 glucose량을 dinitrosalicylic acid법(17)으로 측정하였다. 효소반응액 0.5ml에 dinitrosalicylic acid 용액 5ml를 혼합하고, 100°C에서 10분간 가열한 후 급히 냉각하여 570nm에서 흡광도를 측정하여 glucose를 정량하였다. 효소 단위는 생맥아 1g이 1분간에 1m mole glucose의 생성을 촉매하는데 요구되는 효소의 양으로 하였다.

결과 및 고찰

품종별 맥아의 효소 역가

공시 보리를 petri dish에 넣어 15°C에서 발아시키면서 발아기간에 따른 품종별 보리의 효소 역가를 측정 한 결과는 Fig. 1, 2와 같다.

공시 품종 보리의 α-amylase는 보리자체에는 거의 존재하지 않았으나 발아가 진행됨에 따라 발아 6~8일째에 최고치에 달하였으며 찰보리가 가장 높았고 두루보리, 올보리 순이었으며 두산29호가 가장 낮았다.

또한 공시 보리의 β-amylase 역가는 발아 4일째에 급격하게 높아졌고 그 후는 약간 증가하여 발아 8일째에 최고치에 달하였고 두루보리, 쌀보리, 찰보리 순으로 높았고 두산29호가 가장 낮았다. 발아 8일 이후의 효소 역가는 감소하는 경향이였다. 따라서 상업적으로 맥아 생산을 할 때에는 15°C에서 6일간 발아시키는 것이 효과적일 것으로 생각된다.

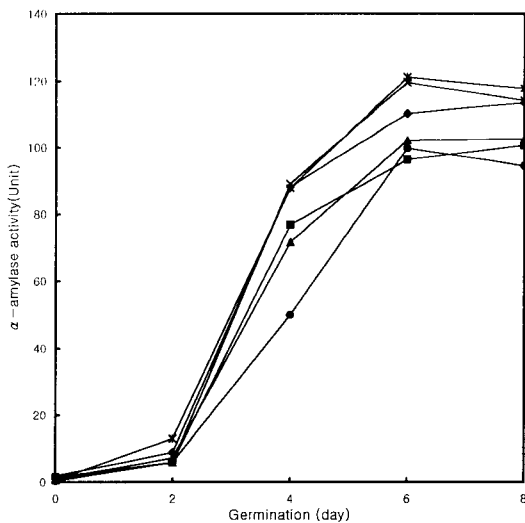


Fig. 1. Changes in α-amylase activity of barley varieties during germination at 15°C, 95% RH.
 ◆: O1 barley, ■: Naked barley, ▲: Shaegang barley, ×: Duru barley, *: Glutinous barley, ●: Doosan 29 barley(two-rowed barley)

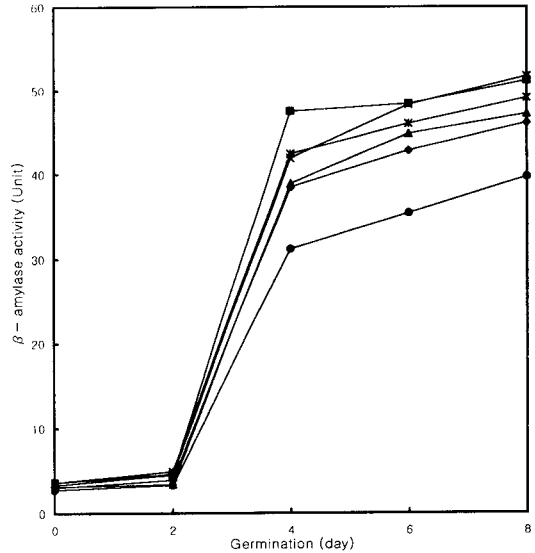


Fig. 2. Changes in β-amylase activity of barley varieties during germination at 15°C, 95% RH.
 ◆: O1 barley, ■: Naked barley, ▲: Shaegang barley, ×: Duru barley, *: Glutinous barley, ●: Doosan 29 barley(two-rowed barley)

Lee 등(13,19)은 공시 보리 품종을 17~23°C에서 발아시켰을 때 효소활성이 두루보리, 새강보리, 찰보리 순으로 높았으나, 본 실험에서는 찰보리, 두루보리, 올보리 순으로 높은 결과를 나타내었다.

Macgregor 등(20)은 2조, 6조대맥 품종을 18°C에 발아시켜 α-amylase를 측정 한 결과 발아 30시간째에는 효소역가는 거의 나타나지 않았고 발아 48~96시간 사이에 효소 합성이 주로 이루어져 발아 100시간째에 최고치에 달하였으며 6조 대맥이 2조 대맥보다 효소 활성이 높아 본 실험의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

β-Glucan의 함량 변화

2조 대맥(두산29호)과 6조 대맥(올보리)의 발아 과정 중 β-glucan의 함량 변화는 Fig. 3과 같다.

발아하기 전 원맥의 경우 2조 대맥의 β-glucan 함량은 3.1%, 6조 대맥이 2.1%이었다. 침지 48시간 후 발아를 시작하기 전에는 각각 2.7%, 2.2%이었으나 발아가 진행됨에 따라 급격히 감소하여 발아 6일째에는 2조 대맥이 0.2%, 6조 대맥이 0.5%로서 처음과는 상반된 양상을 보였다. 이것은 발아 중 합성되어 생성된 β-glucanase에 의한 β-glucan의 분해에 기인하는 것으로 생각된다. 맥아 제조 후 맥아에 남아 있는 β-glucan 함량은 제맥 조건에 따라 달라질 수 있지만 보리 품종에 따른 β-glucanase의 활성 차이에 따라 달라짐을 알 수 있었

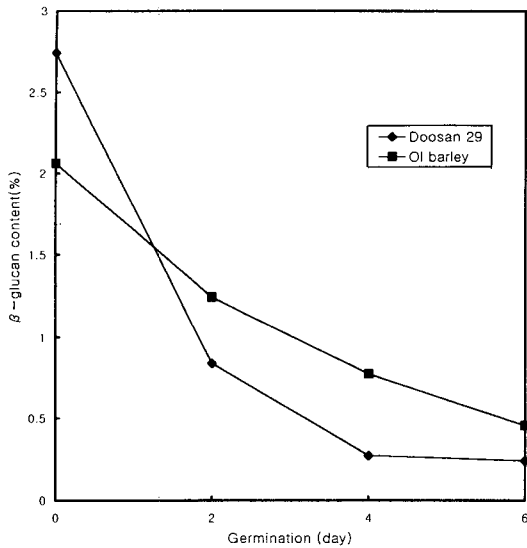


Fig. 3. Changes in β -glucan content of barley during germination at 15°C, 95% RH.

다. 이러한 결과는 상대적으로 높은 β -glucan 함량을 지닌 보리가 상대적으로 높은 β -glucan 함량을 지닌 맥아로 전환되는 경향을 보인다고 하는 Lee와 Lee(19)의 결과와는 다른 양상을 보였지만 발아가 끝난 2조 대맥의 β -glucan 함량(0.2%)이 6조 대맥의 β -glucan 함량(0.5%)보다 낮아서 6조 대맥의 제맥과정 중 β -glucan 함량감소가 2조 대맥에 비해 적기 때문에 초기 β -glucan 함량이 낮고, 제맥 중 β -glucan 분해가 빨라야 제맥용으로 적당하다는 보고에 비추어 볼 때 맥주용의 2조 대맥이 6조 대맥보다 β -glucan면에 있어서 맥아 적성이 우수하다는 Lee와 Lee(19)의 결과와 같았다.

오존의 영향

공시보리를 24시간 증류수에 침지하고 0.3ppm의 오존수에 24시간 동안 침지한 후 21°C에서 발아시킨 녹맥아의 역가 변화는 Fig. 4, 5, 6과 같다.

α -Amylase의 경우 발아 3일에는 실험구간에 3U의 차이를 보였으며 발아 4일째부터 차이가 커져 발아 5일째에는 무처리구가 68.2U, 24시간 처리구가 72.5U이었다.

β -Amylase는 발아 5일째에 무처리구가 29.2U, 처리구가 31.5U이었으며, β -glucanase는 24시간 처리구의 역가가 발아 초기부터 높아서 발아기간 동안 가장 높은 역가를 보였으며 발아 6일의 경우에는 무처리수가 25.3U, 24시간 처리수가 32.7U로써 오존처리시간에 따른 역가의 향상이 뚜렷한 것으로 보여졌다.

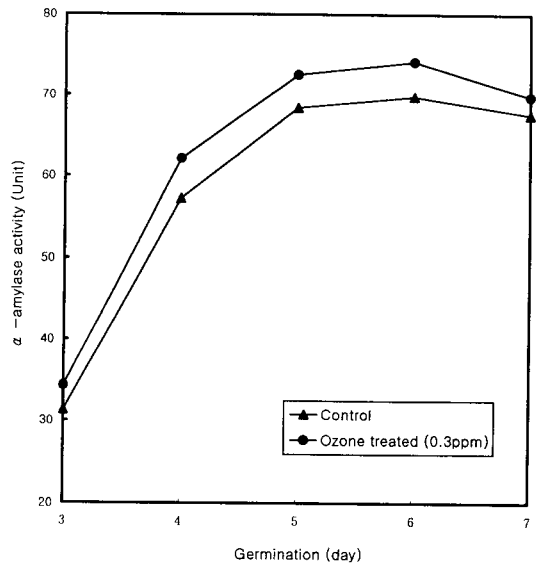


Fig. 4. Effect of germination periods on the α -amylase of barley treated with 0.3ppm ozone solution at 21°C, 95% RH.

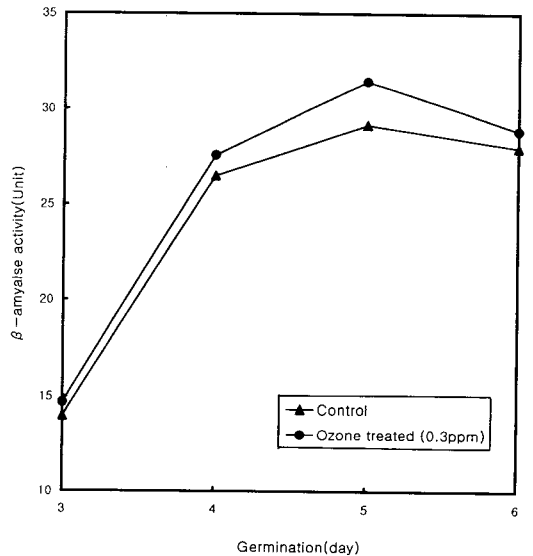


Fig. 5. Effect of germination periods on the β -amylase of barley treated with 0.3ppm ozone solution at 21°C, 95% RH.

대체로 발아 중의 증가가 요구하는 많은 산소는 수중에 용해되어 조직에 흡수되므로 오존수의 처리는 수중 산소의 증가로 발아를 촉진시키는 것으로 생각된다.

오존은 강력한 산화제로서 살균, 탈취, 탈색, 표백, 유독물질의 분해, 식물의 성장 촉진에 유효한 수단으로 이용되어지고 있으며 식품 공업에서 오존을 이용하여

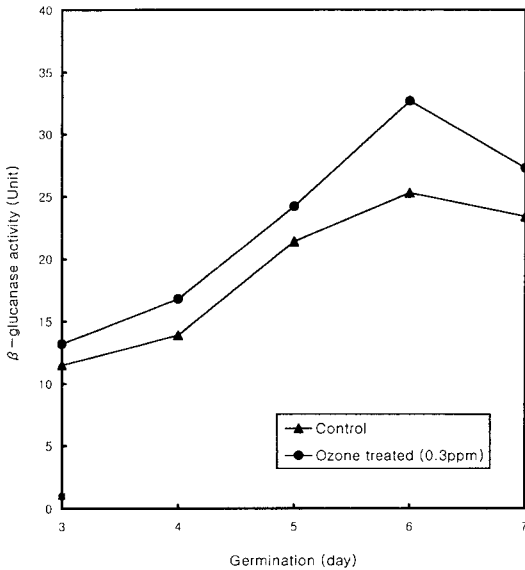


Fig. 6. Effect of germination periods on the β -glucanase activity of barley treated with 0.3ppm ozone solution at 21°C, 95% RH.

고 하는 시도는 오존 발생기가 개발됨으로서 많이 있으며 특히 세균, 대장균, 효모, 바이러스의 살균에 유효한 것으로 보고되고 있어 고품질 맥아 제조에 이용하면 효과적인 것으로 생각된다(21).

Naito(22)은 콩나물 재배에 0.3~0.5ppm의 오존수를 처리하면 콩의 胚軸部의 길이가 증가하고 catalase, superoxide dismutase 활성이 증가하는 것으로 보고 하였으며 Briggs(23)은 공시보리에 0.75% H_2O_2 를 처리하였을 때 경제적으로 재맥(malting)을 촉진시킬 수 있었다고 하였다.

광선의 영향

공시 보리를 증류수에 48시간 침지한 후 발아기간 중 2,500 Lux의 형광을 1일, 4시간씩 조사한 결과 맥아 제조과정 중 α -amylase, β -amylase, β -glucanase 역가 변화는 Fig 7, 8, 9와 같다.

발아 초기에 광선처리구와 무처리구 사이에는 보이는 차이가 없을 뿐 아니라 역가 차이도 없었다. 그러나 발아 2일째부터 색이 트고, 3일째에는 뿌리가 생겨서 차이를 보였는데, 발아 5일째 관찰에서 광선처리구는 싹과 뿌리가 더 건실했고, 뿌리의 경우 무처리구보다 더 짧은 특징을 나타냈으며, 색깔면에서도 무처리구는 싹과 뿌리가 하얀 색인 것에 비해 광선처리구는 엷은 초록색을 띠어서 차이를 나타냈다. 효소 역가도 α -amylase가 무처리구는 55.8U, 처리구는 64.2U, β -amylase

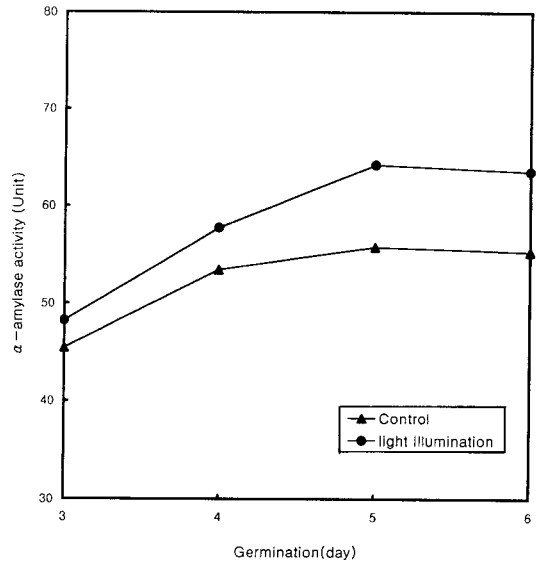


Fig. 7. Development of α -amylase activity during germination with and without light illumination at 2,500 Lux.

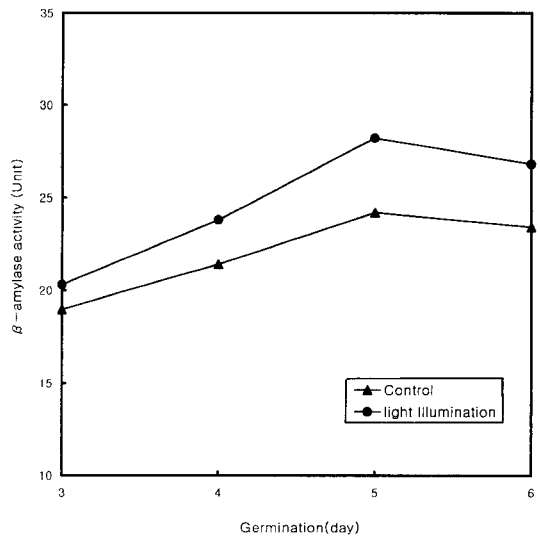


Fig. 8. Development of β -amylase activity during germination with and without light illumination at 2,500 Lux.

가 무처리구는 24.2U, 처리구는 28.2U이었으며 β -glucanase는 처리구가 24.7U이었고 무처리구는 30.9U로서 광선처리한 것이 역가가 높게 측정되었다.

맥아 제조과정 중 광선처리의 경우 효소 활성의 상승 이외에도 처리 맥아의 색이 짙어 소비자의 기호도가 높을 것으로 생각되어 이에 대한 다각적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

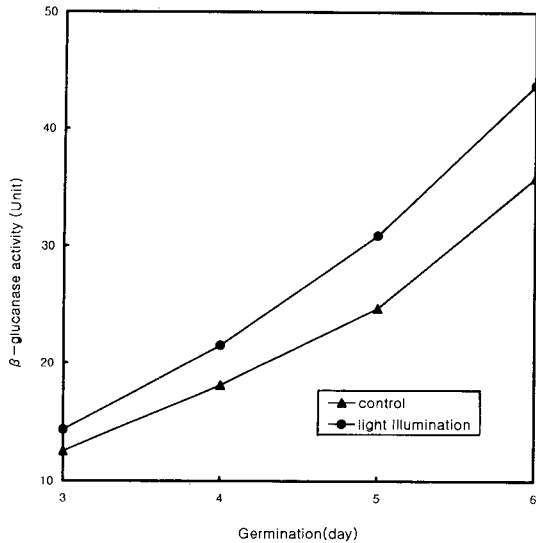


Fig. 9. Development of β -glucanase activity during germination with and without light illumination at 2,500 Lux.

Kim 등(11,12)은 종자 발아시 적색광을 조사하면 gibberellic acid 합성이 유도되며 RNA량이 증대되어 α -amylase 합성이 증가된다고 하였다. α -Amylase의 활성에 미치는 적색광 처리조건은 광도 100Lux, 조사시간 1일, 1회 3시간 처리하는 것이 효과적이라고 하였으며 발아 3일에 급격한 변화를 나타내며 발아 5일에 효소활성이 가장 높았다고 하였으나 본 실험의 결과와는 처리 조건이 달라 비교하기 곤란하였다.

요 약

전통 가공식품의 원료로 이용되는 맥아의 효소역가를 향상시키기 위하여 보리품종별 맥아 효소역가를 측정하였고, 맥아 제조과정 중 오존 및 광선을 처리하고, α -amylase, β -amylase, β -glucanase 역가를 측정하여 다음의 결과를 얻었다. 보리 α -amylase는 침지전에는 활성이 나타나지 않았으며, 발아가 진행됨에 따라 급격히 증가하였고, 품종별 α -amylase는 찰보리, 두루보리, 울보리 순이었으며, 두산 29호, 쌀보리는 낮았으며, β -amylase는 두루보리, 찰보리, 쌀보리가 높았으나 두산 29호는 가장 낮았다. 맥아의 제조과정 중 0.3ppm의 오존수에 24hr 침지하였을 때 오존수를 처리한 맥아의 효소활성이 무처리구에 비해 높게 나타났다. 맥아의 발아기간 중 2,500 Lux의 광을 매일 4hr씩 조사한 결과 광선처리구가 무처리구에 비해 효소 활성이 높았으며, 광선처리 맥아의 싹과 뿌리가 더 진실하고, 뿌리의 경우 무처리

구보다 더 짧았으며, 엷은 초록색을 띠어 소비자의 요구에 더 부합되므로 오존 및 광선의 처리가 고품질의 맥아를 제조할 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 1994년 농림수산기술개발사업 연구비 지원에 의해 수행된 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

문 헌

- Macgregor, A. W. and Dushnicky, L. G. : Changes in barley endosperms during early stage of germination. *J. Inst. Brew.*, **100**, 85(1994)
- Varner, J. E. : Gibberellic acid controlled synthesis of α -amylase in barley and sperm. *Plant physiol.*, **39**, 413 (1964)
- Visuri, K. and Nummi, M. : Purification and characterisation of crystalline β -amylase from barley. *Eur. J. Biochem.*, **28**, 555(1972)
- Laberge, D. E. and Marchydo, B. A. : Changes in β -amylase enzyme of barley during malting. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **45**, 140(1987)
- Hejgaard, J. : Free and bound β -amylase during malting of barley. *J. Ins. Brew.*, **84**, 43(1978)
- Hejgaard, J. and Carleen, S. : Immunoelectrophoresis identification of a heterodimer β -amylase in extracts of barley grain. *J. Sci. Food Agric.*, **28**, 900(1977)
- Rowe, A. W. and Well, C. E. : The inhibition of β -amylase by ascorbic acid. *Biochimica Biophysica Acta*, **65**, 245(1962)
- Bamforth, C. W. and Martin, H. L. : The degradation of β -glucan during malting and mashing: the role of β -glucanase. *J. Inst. Brew.*, **89**, 303(1983)
- Shin, E. T. and Kim, C. S. : Study on the sugar composition of nongerminated malt. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **14**, 244(1985)
- Kim, B. M. and Kim, H. S. : Effects of gamma-irradiation on enzyme activities of green malt. *J. Korean Agri. Chem. Soc.*, **11**, 131(1969)
- Kim, J. G., Shin, S. R., Kim, K. S. and Sohn, T. H. : Effects of red light of α -amylase isozymes of the germinated barley (*Hordeum distichum* L.). *J. Korean Agri. Chem. Soc.*, **31**, 351(1988)
- Kim, J. G., Kim, S. D. and Kim, K. S. : Changes of α -amylase activity of barley during germination by the red light irradiation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **17**, 237(1985)
- Lee, C. K., Song, H. S. and Yun, E. B. : Study on the development of barley utilization. Report of Crop Station RDA, p. 232(1994)
- McCleary, B. V. and Glenne-Holmes, M. : Enzymatic quantification of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -glucan in barley and malt. *J. Inst. Brew.*, **91**, 285(1985)
- Jung, S. W., Kim, Y. H., Koo, M. S., Shin, D. B., Chung, K. S. and Kim, Y. S. : Changes in physicochemical

- properties of industry-type *kochujang* during storage. *J. Korean Agri. Chem. Soc.*, **26**, 403(1994)
16. Ghosh, A. K. : Essential group of wheat β -amylase. Proceedings of the International Symposium on enzyme chemistry Tokyo and Kyoto 1957, p.532(1958)
 17. Chaplin, M. F. and Kennedy, J. F. : Carbohydrate analysis. A practical approach IRL Press Ltd Oxford UK(1986)
 18. Yamamoto, S. and Nagasaki, S. : Purification, crystallization, and properties of an endo β -1,3-glucanase from *Rhizopus chinensis* R-69. *Agr. Biol. Chem.*, **39**, 2163(1975)
 19. Lee, Y. T. and Lee, C. K. : Effects of variatal variation in barley on β -glucan and malting quality characteristics. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 72(1994)
 20. Macgregor, A. W., Duchnick, L. G. and Schroeder, S. W. : Changes in barley endosperm during early stages of germination. *J. Ins. Brew.*, **100**, 85(1994)
 21. Naito, S. : Utilization of ozone in food Industry. *Food Chemicals*, **3**, 27(1987)
 22. Naito, S. : Technics of ultiltzation of ozone for food. *Food Chemicals*, **5**, 8(1989)
 23. Briggs, D. E. : Accelerating malting. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **45**, 1(1987)

(1998년 9월 12일 접수)