

# 맥주 양조에서의 효소의 이용

## I. 서론



이 승 철

〈경남대학교 식품공학과 교수〉

### 1. 맥주의 역사

맥주는 인류가 곡물을 재배하면서 곡물 가공의 한 방법으로 제조되어진 주류로서, 보리를 원료로 하는 형태의 맥주는 기원전 4천~3천년 경 메소포타미아의 슈메르인에 의해 여섯줄 보리가 재배되면서 시작되었다고 추측되어진다. 당시의 바빌로니아의 수도 바빌론에는 맥주집이 줄지어 있었고, 가게에는 오염한 마담이 있었다고 하니 5천년 전이나 지금이나 술집의 광경은 큰 차이가 없는 듯하다.

맥주에 관한 기록은 바빌로니아의 함무라비왕이 기원전 2225년에 펴낸 법전에도 남아 있다. 재미있는 내용을 보면:108조, 맥주값을 에누리한 경우 벌로 물 속에 집어넣었다. 109조, 수배 중인 범인이 맥주집에 들어왔는데 그를 숨겨주면 술집 주인은 사형에 처한다. 110조, 수녀가 맥주집을 차리거나 술을 마시러 맥주집에 들어가면 화형에 처한다. 111조, 맥주집 여자가 60시라의 맥주를 외상으로 한 경우에는 추수 때 60시라의 곡물을 받아내게 한다.

한편, 나폴레옹군에 의해 이집트에서 발견되어 해독된 로제타석의 상형문자에도 그 기록이 남아있는데, 기원전 3천년경의 이집트 제4왕조기 때부터 맥주가 만들어져 피라미드를 건설할 때 맥주를 마시고 힘을 냈다고 한다. 또한 죽은 자의 미이拉到 곁들여 무덤에 넣어 주는 것으

### ■ 目 次 ■

- I. 서론
- II. 원료물질에 존재하는 효소
- III. 외부 첨가 효소
- IV. 결론

로 10가지 고기와 5가지 새, 16가지의 빵과 케이크, 11가지의 와인 그리고 4가지의 맥주가 있다고 하니 그 발달을 짐작할 수 있다.

또한 맥주는 그리스인에게도 애용되었고, 아리스토텔레스도 그가 저술한 책에 맥주의 제법을 자세하게 기록하고 있다. 그후 고대 로마인에게도 사랑을 받았으나 그 지방은 포도주의 영향이 강했기 때문에 오히려 독일에서 발달을 보게 되었다. 이 고대 독일의 맥주제조법에 대해서는 로마제정시대의 역사가 타키루스가 기록하고 있다. 당시의 게르만인들은 맥주를 만드는 일이 빵을 만드는 일과 마찬가지로 가정주부의 중요한 자격요건으로 맥주를 잘 만들어야 시집을 잘 갔다고 한다. 중세기에 이르러 맥주 양조는 왕족과 교회의 특권이 되었고 교회양조장의 발달이 이루어졌으며, 13세기에 이르러 일반시민에게도 그 권리가 개방되었다.

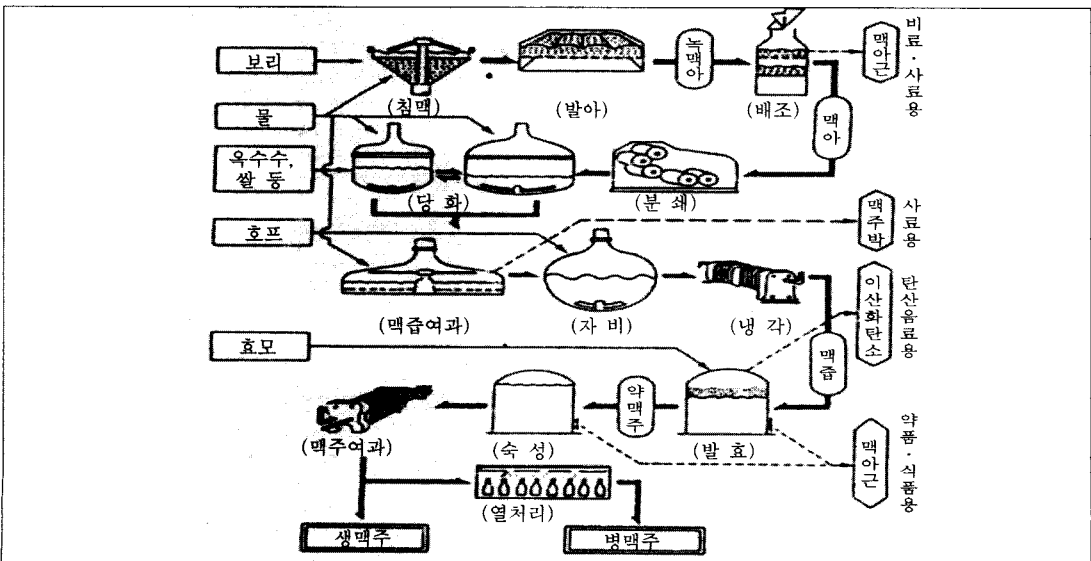
우리나라에서는 1933년 일본인에 의해 조선맥주와 소화기린맥주공장이 설립된 것이 공업적 규모 생산의 시작이었으며, 그후 우리나라 사람에게 의해 다시 동양 및 조선맥주로 전환되

었다. 현재 맥주는 우리나라에서 가장 대중적인 술의 하나로 자리잡았으며, 조선맥주, OB맥주, 진로쿠어스맥주 3사에서 생산되고 있다.

맥주 양조는 효소의 특성과 관여여부에 대한 지식과 관계없이 고대로부터 전해 내려온 효소적 공정으로서, 본고에서는 맥주의 주원료로 인한 효소반응과 외부에서 첨가하는 효소에 의한 반응, 그리고 효소를 이용한 새로운 제품의 개발에 대해 서술하고자 한다.

## 2. 맥주의 양조공정

맥주는 곡류로부터 유래되는 당액의 알콜발효에 의해 제조되는 음료로서, 우리나라 식품위생법상의 식품공전에는 '맥아 또는 맥아와 전분질원료, 호프 등을 주원료로 하여 발효시켜 여과 제성한 것'으로 정의되어 있다(한국식품공업협회, 1977). 따라서 맥주의 주원료는 맥아(보리), 호프, 효모, 물이라고 할 수 있으며, 맥주의 양조공정은 [그림 1]에 나타난 바와 같으며 간단히 각 공정을 설명하면 아래와



[그림 1]

맥주의 양조공정

같다.

### 1) 담금

잘게 부순 맥아에 전분 등의 부원료를 더하여 따뜻한 물과 섞어 적당한 시간과 온도를 유지하면 맥아 속에 있는 효소의 작용에 의해 전분질이 효모가 이용할 수 있는 당분 형태로 전환된다. 이것을 여과하여 호프를 넣고 끓인다. 호프는 맥주 특유의 씹쌀한 맛과 향을 만들어 내며 맥즙 속에 포함된 단백질을 응고하여 맥즙을 맑게 하는 중요한 작용을 한다.

### 2) 전발효

뜨거운 맥즙을 냉각시킨 후 효모를 첨가하여 발효 탱크에 넣고 7~12일간 효모의 작용에 의해 맥즙 속의 당분이 알콜과 탄산 가스로 분해된다. 이 과정에서 제조된 맥주는 미숙성 맥주(Young Beer)로 아직 맥주 본래의 맛과 향을 충분하지 않다.

### 3) 후발효

전발효가 끝난 미숙성 맥주는 후발효 탱크에 옮겨져 0°C 이하의 저온에서 1~3개월간 서서히 숙성되며 맥주의 맛과 향이 조화를 이루게 된다.

### 4) 여과 및 포장

숙성이 끝난 맥주는 여과를 거쳐 맑고 투명한 맥주가 되며, 병이나 캔 등의 형태로 포장된다.

## II. 원료물질에 존재하는 효소

### 1. 양조공정 중의 맥아의 효소

맥주의 주된 재료 중, 효소반응에 관여하는 것은 맥아와 효모를 들 수 있다. 먼저, 맥아는 습기가 있는 곡물로서 제어된 조건하에서 발아가 된 형태인데, 발아 과정 중에 많은 효소가 생산되거나 방출된다. 맥아는 보리에 함유

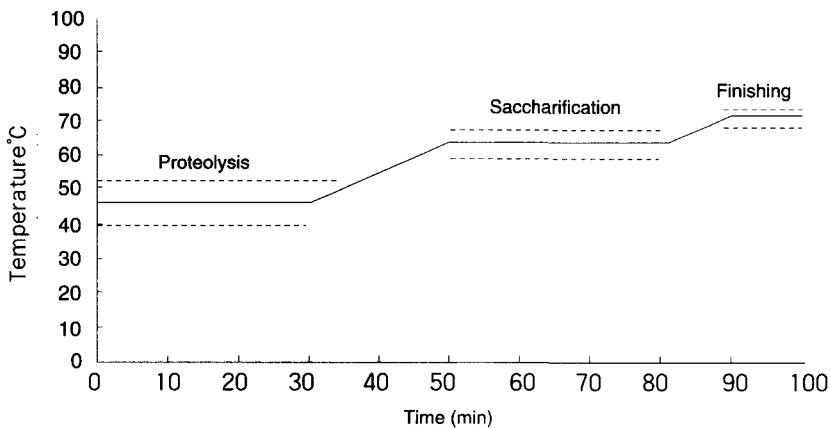
되어 있는 전분, 단백질 등의 고분자유기화합물을 효모가 이용할 수 있는 형태로 전환시킬 수 있는 효소를 생산함으로써 맥주의 품질에 절대적 영향을 미치는 중요한 재료라고 할 수 있다. 맥아의 발아 초기에 일부 효소에 의한 가수분해가 일어나는데, phytase에 의한 phytin의 가수분해 결과 생성되는 phosphate와 금속 무기질은 발효 중의 효모의 대사에 중요한 무기질 영양분이 된다. 또한 hemicellulase는 보리 내배유 세포벽의 주된 구성분인 (1→3), (1→4)- $\beta$ -D-glucan 형태의 hemicellulose를 분해하여, 원래보다 구조가 덜 단단하게 변형된 맥아를 생산하게 하여, 양조시에 비교적 쉽게 이용될 수 있는 형태의 수용성 성분이 용출되도록 한다. 한편 다양한 단백질 가수분해 효소(protease)도 생산되어 곡물의 단백질을 분해하는데, hordein같은 불용성 저장단백질은 서서히 거대 수용성 peptide, 작은 peptide, 아미노산으로 전환된다. 거대 peptide는 양조시 단백질의 공급원으로 중요하며, 맥주의 거품 형성에 이용된다. 잘게 분해된 peptide나 아미노산은 발효 동안에 효모의 질소원으로서 중요하다. 발아 동안에 생성된  $\alpha$ -amylase는 전분을 제한적으로 분해하고,  $\beta$ -amylase는 발아 동안에 단백질 가수분해 효소의 작용에 의해 방출되지만 자연 전분 입자에 대해서는 작용하지 않는다. 맥주의 종류에 따라 다양한 형태의 맥아가 제조될 수 있는데, 특히  $\alpha$ -amylase와  $\beta$ -amylase를 중점으로 연구하고 있다(Palmer, 1989; Bamforth and Quain, 1989).

맥아를 이용한 담금공정에서의 효소 반응을 예로서 Pale 맥아만으로 Pilsner형태의 맥주를 생산하는 경우를 보면, 이 담금 과정에서 세단계의 온도 조절을 한다[그림 2]. 시작 단계는 단백질 분해과정(proteolysis)이라고 하는데, 그 이름에서 말하는 것처럼 이 단계의 가장 중요

〈표 1〉

## 원료물질에 존재하는 맥주양조관련 효소

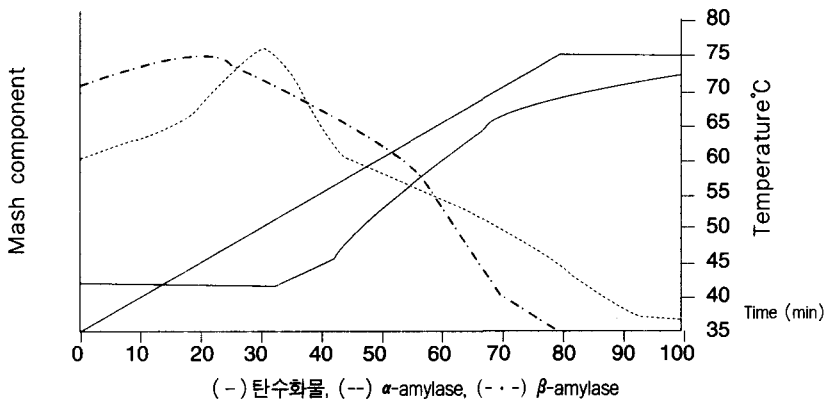
| 효 소 |                                | 기 작                                 | 역 할                      |
|-----|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| 기원  | 효 소 명                          |                                     |                          |
| 맥아  | $\alpha$ -amylase              | 전분의 $\alpha$ -(1,4)결합을 endo형태로 가수분해 | 전분분해하여 발효가능당을 제공         |
|     | $\beta$ -amylase               | 전분의 $\alpha$ -(1,4)결합을 exo형태로 가수분해  | 전분분해하여 발효가능당을 제공         |
|     | hemicellulase                  | $\beta$ -glucan을 분해                 | 불용성 다당류를 분해              |
|     | protease                       | 단백질 가수분해                            | 불용성 단백질로부터 수용성 peptide생산 |
|     | phytase                        | phytin분해                            | 효모 성장을 위해 인산과 금속이온 제공    |
| 효모  | glycolytic enzyme              | 포도당으로부터 pyruvate 생산                 | 해당작용 효소                  |
|     | pyruvate decarboxylase         | pyruvate 탈탄산                        | 에탄올과 탄산가스 생산             |
|     | pyruvate decarboxylase complex | acetyl-CoA 생산                       | 향미 성분 생성                 |
|     | aminotransferase               | 아미노산 대사                             | 향미 성분 생산                 |



[그림 2] Pilsner 형태 맥주 생산시의 담금 프로그램, 점선은 각 단계에서의 최대, 최저 온도를 의미한다.

한 기능은 맥아 내에 존재하는 불용성 단백질을 분해하여 다양한 분자량을 가진 peptide와 유리 아미노산으로 수용화시키는 것이다. 이때의 온도는 40°C에서 최고 52°C까지 다양하며, 시간은 15분에서 1시간까지가 된다. 맥아에서 생산된 endopeptidase와 carboxypeptidase가 관여하는데, 효소의 온도 안정성에서 endopeptidase가 50°C까지 안정한 반면에 carboxypeptidase는 55°C까지 안정하다. (Moll et al., 1981). 보리의 aminopeptidase는 열불안정성이어서 맥아즙에서는 활성이 거의 없다. 이들 효소의 수용성 질소 생산물은 맥주거품 형성과 효모 성장에 중요하다. 상당량의 수용성 질소 성분은 발아동안에 형성되며, 맥아즙에서의 전체 질소 중의 단지 약 3분의 1이 이 단계에서 방출된다. 간혹 담금 공정 중에  $\beta$ -glucanase나 phytase를 첨가할 때가 있는데, 이들 효소들은 단백질 가수분해 효소보다 더 열에 불안정하므로 이때는 40°C 정도의 낮은 온도에서 공정을 진행하여야 한다. 20세기 초까지의 보리 품종은 효소 생산 능력을 크게 가지지 못하여 낮은 온도와 긴 담금 공정이 일반적이었으나 현재에는 보리 품종이 개선되어 예전보다 담금 공정이 신속하게 이루어지고 있다.

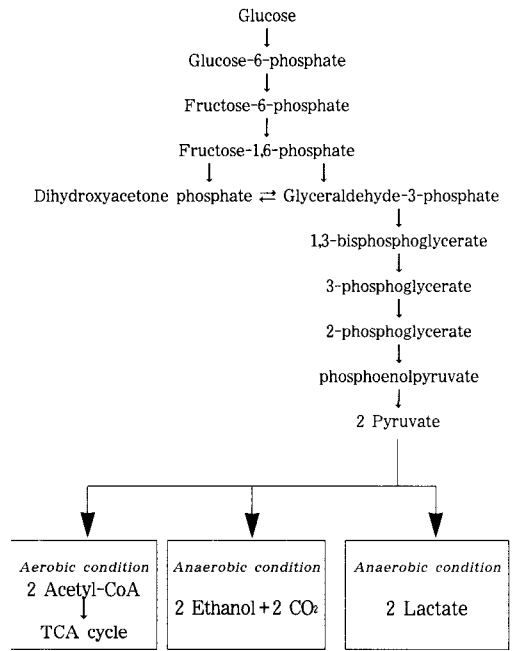
단백질 가수분해 과정 후에는 아직 맥아의 전분이 완전한 형태로 남아 있는데, 그 이유는 맥아가 아직 젤라틴화되지 않아 자연적인 형태의 전분이 효소에 의해 쉽게 가수분해되지 않기 때문이다. 당화(saccharification)단계에서 맥아의 전분은 60°C에서 젤라틴화되고, 젤라틴화된 전분은 맥아 내에 존재하는  $\alpha$ -amylase와  $\beta$ -amylase에 의해 빠르게 분해된다. 당화온도에서  $\beta$ -amylase는 활성화되어 발효가능한 maltose를 생성하며,  $\alpha$ -amylase는 발효가능한 glucose와 maltotriose, 그리고 비발효성의 dextrin을 생성한다. 당화단계는 일반적으로 30분 정도이며, 맥아전분의 젤라틴화를 위한 60°C 이상의 온도에서  $\beta$ -amylase는 매우 불안정하여 65°C에서는 당화하는 동안에 30분 이내에 대부분 완전하게 불활성화 된다[그림 3] (Moll et al., 1981; Narziss, 1976).  $\alpha$ -amylase 또한 불활성화된다. 당화단계는 젤라틴화를 위한 높은 온도를 필요로 하고 효소활성을 보존하기 위해 낮은 온도를 필요로 하는 절충 단계라고 말할 수 있다. 따라서 맥아 내의 중요한  $\alpha$ -amylase의 활성을 유지하면서 가능한 한 온도를 높게 되는 절충온도의 선택이 필요하다.



[그림 3]

맥아즙에 존재하는 효소 성분

맥아즙 내의 복잡한 인자를 이해하고 효소 반응의 속도를 예측하기 위해서는 맥아 내부에 존재하는 효소, 수용화되는데 필요한 시간, 그리고 기질에 작용할 수 있는 시간을 알아야 한다. 양조업자들의 경험으로는 63°C가 발효 가능 당을 형성하기에 최적 온도라고 제안하고 있다. 담금공정의 온도를 조절하여 맥아즙 내의 발효성당의 함량이 맥아 효소를 사용하는 전체 용해된 고형물의 약 50%에서 75%까지 변화를 줄 수 있다. 이 범위는 알코올 함량을 다르게 포함시킬 수 있다. 대부분의 맥주는 65%에서 70%의 발효성당을 가진 맥아즙으로부터 발효된다. 맥아 내에 미리 형성된 몇몇 당은 맥아즙 내의 발효성당의 함량을 감소시키는 것을 어렵게 한다. 그러므로 매우 낮은 알코올 함량을 가진 맥주를 만든다.



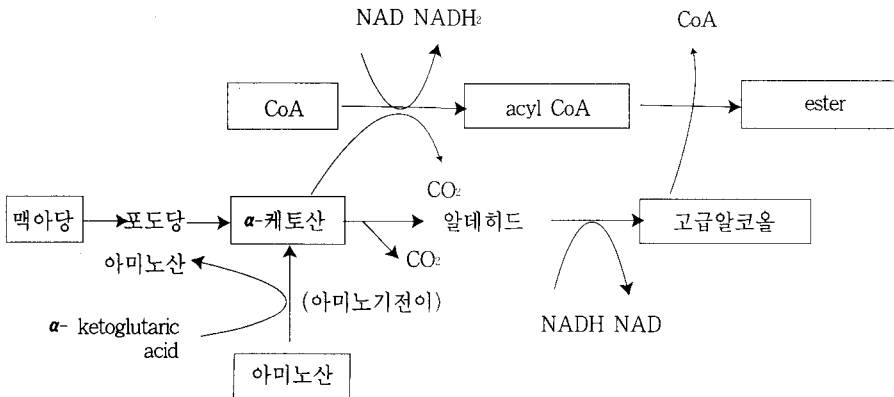
[그림 4] 효모에 의한 해당과정과 알코올발효

2. 효모의 알코올발효관련 효소

효모는 단세포 진핵생물로서 맥아의 효소에 의해 전환된 당을 이용하여 알코올과 탄산가스를 생산한다. 물론 효모는 자신의 생명을 유지시켜 나가기 위하여 에너지를 생산하는 과정

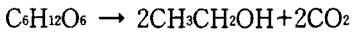
이지만 인간은 이를 이용하여 주류를 생산하고 있다.

포도당의 생화학적 대사과정을 보면 [그림 4](Campbell, 1995), 먼저 해당과정(glycolysis)을 거쳐 두 분자의 pyruvate로 전환된 후, 효



[그림 5] 맥주 효모에 의한 ester, 고급알콜 생성

기적인 상태에서는 TCA회로를 거쳐 탄산가스와 물로 분해되고, 혐기적 조건에서는 젖산 발효나 알콜발효를 거친다. 맥주 제조에 이용되는 효모의 경우 pyruvate로부터 에탄올과 탄산가스를 생산하는 알콜발효를 거치는데, 포도당으로부터 알콜을 생산하는 최종단계에까지의 반응은 아래와 같다.



포도당이 pyruvate로 전환되는 해당과정에는 10개의 효소가 관여하는데, 이는 hexokinase, phosphoglucumutase, 6-phospho-fructokinase, aldolase, triosephosphate isomerase, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, phosphoglycerate kinase, phosphoglycerate mutase, enolase, pyruvate kinase이다. Pyruvate로부터 알콜이 생산되는데에는 pyruvate decarboxylase가 관여한다.

또한 효모에는 맥주의 향미 성분의 생성에 관여하는 효소도 존재하는데 [그림 5], 여기에는 pyruvate dehydrogenase complex, 다양한 aminotransferase, ester synthetase 등이 관여한다.

### Ⅲ. 외부 첨가 효소

#### 1. 냉장 청징용(Chillproofing) 효소

맥주 양조에서 가장 잘 알려진 첨가용 효소는 냉장 청징용 효소이다. 맥주는 냉장 상태에서 후발효와 숙성을 거치는데, 대부분의 맥주는 투명성을 기하기 위해 이때 여과를 거친다. 하지만 여과에도 불구하고 판매되는 과정 중에 다시 혼탁되는 경우가 있는데, 이는 혼탁입자의 생성 때문이다. 혼탁입자는 polyphenolic

<표 2>

맥주양조관련 외부첨가효소

| 효 소                | 기 작  | 응 영             |
|--------------------|--|-----------------|
| $\alpha$ -amylase  | dextrin의 $\alpha$ -(1,4)결합을 endo형태로 가수분해         | 고알콜 맥주 제조       |
| $\beta$ -amylase   | dextrin의 $\alpha$ -(1,4)결합을 exo형태로 가수분해          | 고알콜 맥주 제조       |
| acid protease      | 산성 pH에서 단백질 가수분해                                 | 거품 생성, 효모 응집 방지 |
| bromelain          | 단백질 가수분해   | 냉장 청징           |
| catalase           | 과산화수소를 물과 산소로 분해                                 | 산화 방지           |
| debranching enzyme | dextrin의 $\alpha$ -(1,6) 결합을 분해                  | 고알콜 맥주 제조       |
| ficin              | 단백질 가수분해   | 냉장 청징           |
| $\beta$ -glucanase | $\beta$ -glucan을 분해                              | 여과 향상           |
| glucoamylase       | dextrin의 $\alpha$ -(1,4)결합 $\alpha$ -(1,6)결합을 분해 | 저열량 맥주 제조       |
| glucose oxidase    | 포도당을 산화  | 산화 방지           |
| papain             | 단백질 가수분해   | 냉장 청징           |
| pepsin             | 단백질 가수분해   | 냉장 청징           |

procyandian과 peptide 간의 상호작용으로 유발되며, 탄수화물이나 금속 이온도 영향을 미친다.(Hough *et. al.*, 1982). 혼탁입자는 미생물의 부패에 의한 혼탁과 비슷하여 미학적 의미에서 바람직하지 못하다. 1900년대 초에 진보된 병포장과 저온 살균의 채택은 병맥주의 판매 증가를 가져왔으나 혼탁입자로 인하여 원거리 수송과 장기간 저장이 불가능했다. 이 문제의 해결을 위해 1909년과 1910년에 미국양조협회는 맥주의 혼탁생성의 원인을 규명하는 가장 우수한 논문에 대해 상금을 내걸었고, 1911년 시카고에서 열린 제2차국제양조학회에서 Leo Wallerstein은 맥주의 혼탁입자의 방지를 위해 단백질 가수분해 효소의 사용을 제안했다(Wallerstein, 1911). 그러나 실질적인 효과에 대해서는 의문시되어 50년이 지난 1961년에 인정을 받아 효소를 이용한 공정이 개발됐다(Wallerstein, 1961).

처음 Wallerstein에 의해 제의된 냉장 청징용 단백질 가수분해 효소는 bromelin, papain, pepsin이었으나, 그후 지속적 연구의 결과에 의하면 papain이 가장 우수하였다(Cayle *et al.*, 1964). Papain은 열대과실인 papaya로부터 추출되며, 활성부위에 Cysteine을 함유하는 thiolprotease에 해당된다. 같은 계열의 식물성 단백질 가수분해 효소인 bromelin과 ficin은 papain보다는 효과적이지 않다. 현재 이용되는 청징용 효소로는 papain 이외에 *Streptomyces* 종에 의해 생산되는 protease와, *Aspergillus oryzae* 로부터 생산되는  $\alpha$ -amylase가 있다(Posada *et al.*, 1981). Amylase는 맥주에 존재하는 dextrin을 가수분해하여 혼탁을 방지하는데, 현재에는 papain에 소량의  $\alpha$ -amylase를 혼합하여 사용하고 있다.

## 2. 고알콜 맥주 제조를 위한 효소

맥주에서의 알콜의 양은 발효가능당의 양에 의해 매우 제한된다. 맥주에서의 발효가능당의 양은 맥즙 내의 amylase에 의해 조절되며, 그 상한은 75% 정도이다.  $\alpha$ -,  $\beta$ -amylase에 의해 형성되는 발효가능당의 양은 이들 효소의 온도 안정성에 의존하며, 또한 이들 효소가 전분의  $\alpha$ -(1, 4) 결합만을 분해하고  $\alpha$ -(1, 6)결합은 분해하지 못하는데에도 좌우된다.

과학이 발달되면서 기존의 맥주보다 더 높은 알콜을 함유하는 새로운 맥주를 만들기 위한 시도들이 있었다. 알콜의 함량을 높이기 위해서는 효모에 의해 발효가능한 추출물의 양을 증가시키는 것이 필요하다. 즉, 효모 발효의 향상을 위해서는 비발효성 dextrin의 가수분해를 위한 효소를 적용하는 것이 요구된다. 발효가능당의 양을 증가시키는 고전적인 방법은 맥아즙을 따로 분리하여 담금과정에 기존의 맥아즙에 더 첨가하는 것이다. 이로 인해 맥아즙의 debranching 효소( $\alpha$ -(1-6) 결합 분해 효소)와  $\alpha$ -,  $\beta$ -amylase 등을 보충하여 발효가능당의 양을 65%에서 75%까지 약 10% 향상시킬 수 있다(Manners and Rowe, 1971). 그러나 이 방법이 적용될 때 맥즙에 존재하는 세균이 효소와 함께 유입되어 오염의 가능성이 높으므로 아주 일반화되지는 않았다. 이 방법의 개선으로 보리의  $\beta$ -amylase만을 맥아즙에 첨가하는 것이 제안되기도 하였다. (Norris and Lewis, 1985). 발효 중에는 pH가 4.5 이하인데, 이때의 맥아  $\alpha$ -amylase는 불활성화되고, 또한 맥아의 debranching 효소는 아주 미량이므로 발효 중의 pH에서 활성이 있는 전분 분해효소는 내산성이 있는  $\beta$ -amylase뿐이다. 따라서 보리의  $\beta$ -amylase를 첨가하는 것은 맥아즙을 첨가하는 것과 같은 효과를 낸다고 할 수 있다. 또한 *Aspergillus oryzae*로 부터 생산된  $\alpha$ -amylase를 첨가하는 방법도 제시되었는



데 (Saletan 1966), 이 곰팡이의  $\alpha$ -amylase는 내산성이어서 맥아즙의 pH에서도 안정하여 dextrin을 가수분해하여 발효가능당의 함량을 증가시킬 수 있다.

### 3. 저열량 맥주 제조를 위한 효소

1960년대 후반에 효소에 의해 맥아의 발효 가능 추출물의 함량을 증가시켜 제조한 맥주가 개발되었다. 이 맥주는 열량이 낮아 "light" 맥주라고 불리어졌으며, 매우 큰 성공을 거두었다. 1991년에 light맥주의 가장 유명한 3개 상품이 미국 맥주 판매의 23%를 차지했다. 이 맥주의 대부분들은 미생물 효소를 사용하여 제조되었다. 일반 맥주에서, 맥즙 추출물의 약 1/3이 전분으로부터 유래된 수용성 dextrin이며, 이는  $\alpha$ -(1,6) 결합을 가지고 있어 효모에 의해 발효되지 않고 최종제품에 잔존하여 맥주 열량의 1/3을 차지한다. 이러한 수용성 dextrin을 발효가능당으로 전환시키면 효모에 의해 대부분 이용되어 알콜 함량이 높고 잔여 탄수화물이 거의 없는 맥주가 생산된다. 이 맥주를 희석하여 일반 맥주와 같은 알콜 함량을 갖게 하면 탄수화물이 매우 적은 저열량 맥주가 된다. 우리나라에서도 저열량 light맥주는 인기가 대단하다고 할 수 있다.

저열량맥주의 제조를 위하여 dextrin을 완전히 분해하는 것이 필요한데, 이때 *Aspergillus niger*의 glucoamylase를 이용한다. 이 효소는 dextrin의  $\alpha$ -(1,4) 결합과  $\alpha$ -(1,6) 결합 모두를 분해할 수 있는 exoamylase이다. 맥즙의 발효가능당의 증가를 위한 Saletan의 연구에 의하면, 최적의 조건에서 glucoamylase는 dextrin의 95% 이상을 효모에 의해 이용가능한 포도당으로 분해하였다. 탄수화물 이외에 맥주에 존재하는 다양한 peptide 등과 같은 물질들이 있

으므로 발효되는 총 맥즙 추출물은 약 85%이다. 최적의 반응조건을 위해 첨가되는 glucoamylase의 양은 대략 5-10 Units/L이다. 이때의 1 Unit는 pH 4.2, 60°C에서 시간당 수용성 전분으로부터 1 gram의 포도당을 생산하는 것으로 정의한다.

저열량 맥주의 인기가 더해감에 따라 생산 단계에서 glucoamylase 사용은 늘어가고 있지만 몇몇 문제점이 제기되고 있다. 가장 큰 문제로서, glucoamylase를 함유한 맥주와 수용성 dextrin을 함유하는 일반 맥주가 혼합될 때 dextrin이 효소에 의해 분해되어 포도당이 생성되어 비정상적으로 단맛이 나는 맥주가 만들어지는 것이다. 대부분의 맥주는 부패 방지를 위해 60°C 정도의 온도에서 저온살균을 실시하는데, 이 온도는 glucoamylase의 최적온도이며 또한 맥주의 pH도 이 효소의 최적 pH이어서 일반 맥주와 저열량 맥주를 섞어서 멸균할 때는 심각한 우려가 예상된다. 따라서 이런 문제를 해결하기 위해 glucoamylase를 양조 과정의 초기에 첨가하는 것이 제안되었다. 이렇게 함으로써 담금 공정 후에 끓이는 자비공정에서 모든 효소를 불활성화시킬 수 있다. 담금공정의 조건은 온도가 60°C 이상, pH 5.2~6.0정도인데, *Aspergillus niger*에서 생산된 glucoamylase는 60°C 이상에서 비활성화되고, 최적 pH는 4.0~4.5이므로 효소의 활성을 나타내기에는 적합하지 않지만 효소 첨가량을 증가함으로써 이를 극복할 수 있다.

*Aspergillus niger*는 glucoamylase이외에도 맥주 양조에 이용될 수 있는 효소를 많이 생산하는데, 산성 단백질 가수분해 효소(acid protease)도 좋은 예 중의 하나이다. 맥주를 부울 때 일어나는 거품은 맥주의 중요한 특성으로서 맥주의 산화를 방지하며 탄산가스의 보유를 도와준다. 맥주에서 형성되는 거품은 고

분자 peptide에 의해 생성되는데, *Aspergillus niger*에서 생산된 acid protease는 맥주의 산성 pH조건에서 peptide bond를 잘 가수분해하여 거품 형성에 유리한 peptide를 충분히 공급하여 줄 수 있다. 그러나 만일 acid protease가 너무 많이 첨가하면 peptide가 완전히 분해되어 거품이 잘 형성되지 않으므로 적당량을 첨가하여야 한다.

단백질 가수분해 효소는 또다른 부가적인 효과로 맥주 양조에 긍정적 영향을 줄 수 있다. 대부분의 효모는 양조 과정동안 성장을 마치면 응집하는 경향을 보인다. 즉, 효모세포의 표면이 변화하게 되어 서로간에 결합하여 수백, 수천의 효모가 응집하여 발효탱크의 바닥에 침전된다. 이런 효모의 응집현상은 발효가 끝난 후에는 쉽게 효모를 제거하여 여과가 용이해진다는 잇점이 있어 유리한 측면도 있으나, 라이트 맥주 생산에서도 glucoamylase에 의해 분해된 glucose를 발효시키기 위해 효모가 장기간 부유상태로 머물러야 하므로 유익하지 않다. 이때 acid protease가 존재하면 효모의 세포 표면을 변화시켜 응집 효모를 응집하지 않는 형태로 전환시킬 수 있다. 일반적으로 glucoamylase에 불순물로 함유된 미량의 protease만으로도 1~2일 동안 응집현상을 막을 수 있는데 이 기간은 발효를 완결하는데 충분하다. 하지만 역시 주의할 점은 protease가 너무 많이 함유되면 거품이 잘 형성되지 않으므로 첨가량에 유의하여야 한다. Glucoamylase를 저열량 맥주 생산에 이용할 때 생기는 또 다른 문제는 부반응이다. 이 부반응은  $\beta$ -galactosidase의 역할로서, 이는 맥아즙의 galactosyldiglyceride를 가수분해하여 거품 형성에 심각한 문제를 야기하고, 맥주에 지질 함량을 높이게 된다.

효소의 기원도 문제인데 일부 식물성 glu-

coamylase는 맥주를 혼탁하게 하기도 한다. 이는 효소 정제가 완전하지 않아 혼입된 불순물에 의한 것인데, 효소 정제기술이 발달되어 순수한 형태를 사용하여 이런 문제점들이 많이 없어졌다. *Rhizopus*속의 glucoamylase는 맥주 양조에서 아주 효과적이는데, 그 이유는 일반적인 맥주의 살균온도인 60°C에서 불활성화되어 일반 맥주와 저열량 맥주를 혼합할 때 단맛을 내지 않기 때문이다. 그러나 효소 자체는 아주 효과적이지만, 불순물이 함유되면 부반응을 심각하게 유발하므로 순수한 형태의 glucoamylase만을 사용해야 하고 따라서 경제적으로 타산이 맞지 않아 아직까지 저열량 맥주의 생산에 이용되지 못하고 있다.

#### 4. 여과 보조용 효소

여과는 양조 과정에 아주 중요한 공정이다. 여과에 문제가 되는 성분은 (1,3)과 (1,4)로 결합된  $\beta$ -D-glucan인데 이 다당류를 분해하는  $\beta$ -D-glucanase가 여과를 향상시키기 위해 응용될 수 있다.

맥아즙을 제조하는 담금공정 후에 이를 여과하여 맥아즙과 박(찌꺼기)으로 분리하는데, 일반적으로는 중력을 이용한 자연 침전에는 2시간 정도가 소용되지만 압력 여과를 이용하면 시간이 많이 절감된다. 실질적 산업 공정에서는 몇 분이라 할지라도 기기의 효율적 가동이라는 측면에서는 생산비 절감에 많이 영향을 미친다고 할 수 있다. 맥아즙 여과가 느릴 경우 물을 분사하여 곡물을 씻어내어 맥아즙을 회수할 수 있으나 이는 별로 효과적이지 않다. 실제로 여과를 방해하는 주성분은 불완전하게 분해된 곡물의 세포벽과 작은 전분 입자들인데, 이를 해결하기 위해 *Bacillus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*에서 생산

된  $\beta$ -glucanase를 첨가하여 좋은 효과를 얻었다(Letters *et al.*, 1985 ; Oksanen *et al.*, 1985). 특히 *Trichoderma*에서 생산된  $\beta$ -glucanase는 정제과정 중 cellulase와 hemicellulase를 함유하고 있어 더욱 효과적이다.

### 5. 산화방지용 효소

맥주는 특히 산소에 의한 산화에 민감하다. 산소는 발효기간 중에 효모에 의해 소모되어 리터당 0.2mg이하로 존재한다. 포장된 맥주에서의 공기의 함유량은 일반적으로 포장 1ml를 초과하지 않는다. 냉장 청징용 효소가 개발된 후 맥주는 예전보다 훨씬 장기간 투명성을 보장받으면서 유통기간을 늘렸으나, 포장 기술의 발달로 인해 포장 중의 공기의 양을 줄임으로서 더욱 발전을 가져왔다. 포장된 맥주의 안정성은 항산화제의 발달로 더욱 향상되었는데, 항산화제는 맥주의 산화를 지연시킨다. 맥주에 사용된 일반적 항산화제는 아황산염과  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 와 sodium erythorbate등이다(Wallerstejn, 1961). 그러나 화학물질에 대한 소비자의 거부반응으로 인하여 산화방지용 효소에 대한 연구도 많이 진행되었다.

맥주 저장을 위한 산화방지용 효소로는 *Aspergillus niger*에서 생산되는 glucose oxidase와 catalase가 있다. Glucose oxidase는 포도당과 산소로부터 과산화수소를 생성하며, catalase는 과산화수소를 물과 산소로 분해하여 결과적으로 산소를 제거할 수 있다. Blockmans등은 1987년에 맥주에 glucose oxidase-catalase시스템을 적용했다(Blockmans *et al.*, 1987). 포도당은 맥주 양조 과정 중 효모에 의해 완전히 소비되는데, 산화 방지용 효소에 의한 산소 제거를 위해 미량의 포도당을 맥주에 첨가해야 한다. Glucose oxidase에 의해 산소를

완전히 제거하기 위해서는 맥주 리터당 0.1g의 포도당을 첨가하면 된다. 그러나 이 시스템을 이용하여 제조한 맥주의 관능검사 결과 보통의 맥주보다 더 김이 빠진 느낌이어서 연구자들에게 실망을 주었다. 또한 catalase는 알콜이 존재할 때는 과산화수소를 물과 산소로 분해하지 못하고, 맥주의 다른 성분을 산화시켜 peroxidase와 같은 능력을 보였다. 따라서 맥주의 다른 성분을 변화시키지 않고 과산화수소를 제거하기 위해서는 아황산을 첨가하는 것이 필요하다. 결과적으로 아황산염, 포도당, catalase, glucose oxidase 등을 첨가하여 맥주의 맛과 향미에 영향을 주지 않고 산소를 제거할 수 있었다.

Goossens 등은 1989년 맥주병의 왕관 뚜껑에 포도당과 glucose oxidase를 고정시키는 방법을 고안했다.(Goossens *et al.*, 1989). 이로서 맥주병의 윗공간에 존재하는 산소의 90% 이상을 제거할 수 있었다. 앞으로 효소에 의한 산소 제거 연구는 이러한 산소의 제거로 맛과 향미가 안정한지, 그리고 경제성이 있는지에 집중될 것으로 예상된다.

## IV. 결 론

맥주를 효소반응으로 생각해 보면 수용액(물)에서 맥아와 효모에 존재하는 효소에 의한 화학반응의 결과로 알콜과 탄산가스를 함유한 물질이다. 따라서 맥아의 원료인 보리의 품종을 개량하거나 원하는 효소가 풍부한 맥아를 제법하는 공정을 개발하거나, 또는 알콜 발효와 풍미에 관여하는 효소가 풍부한 효모를 개발함으로써 맥주 양조에 효소적으로 접근할 수 있다. 또는 이러한 양조공정을 보조할 수 있는 효소를 다른 생물에서 분리하여 첨가하는 것이 현재까지의 양조관련 효소에 대한

연구라고 할 수 있다. 그러나 현재 급속히 발전되는 생물공학적 기법을 응용하면 원하는 온도와 pH에서 최적의 활성을 가지는 효소를 실험실에서 제조할 수도 있을 것이다. 따라서 장래의 양조용 효소는 돌연변이 방법을 이용한 새로운 효소나, 특이한 활성만을 가진 인공 효소를 응용할 것으로 전망되며, 다른 한편으로는 효소 사용 이후의 효소의 불활성화에 대하여 가열을 거쳐 불활성화시키는 것이 아니라 특이적 저해제의 개발이 이루어질 것이다.

#### 【참고문헌】

1. 한국식품공업협회. 1997. 식품공전 ( I ) pp. 581-582.
2. Bamforth, C.W., and Quain, D.E. 1989. Enzymes in brewing and distilling. In "Cereal Science and Technology", Aberdeen University Press, Aberdeen, Ireland
3. Blockmans, C., Heilporn, M., and Masschelein, C.A. 1987. Scope and limitation of enzymatic deoxygenating methods to improve flavor stability of beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 45, 85-90.
4. Campbell, M.K. 1995. Biochemistry 2nd Ed., Saunders College Publishing
5. Cayle, T., Saletan, L.T., and Lopes-Ramos, B. 1964. Some papain fractions and their characteristics. *Am. Soc. Brew. Chem. Proc.* 22, 142-151.
6. Goossens, E., Dillemans, M., and Masschelein, C.A. 1989. Headspace oxygen removal from packaged beer using crown cork inlays coated with glucose oxidase. *Pro. Eur. Brew. Conv. (Zurich)* 22, 625-632.
7. Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R., and Young, T.W. 1982. "Malting and Brewing Science", Vol. II, pp. 826-828. Chapman and Hall, London.
8. Letters, R., Byrne, H., and Doherty, M. 1985. The complexity of beer  $\beta$ -glucans. *Proc. Eur. Brew. Conv. (Helsinki)* 20, 395-402.
9. Manners, D.J., and Rowe, K.L. 1971. Studies on carbohydrate-metabolizing enzymes. XX V. The debranching enzyme system in germinated barley. *J. Inst. Brew.* 77, 358-365.
10. Moll, M., Flayeux, R., Lipus, G., and Marc, A. 1981. Biochemistry of mashing. *Master Brewer's Assoc. Am. Tech. Quart.* 18, 166-170.
11. Narziss, L. 1976. The influence of mashing procedure on the activity and effect of some enzymes-A survey. *Master Brewer's Assoc. Am. Tech. Quart.* 13, 11-20.
12. Norris, K., and Lewis, M.J. 1985. Application of a commercial barley  $\beta$ -amylase in brewing. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 43, 96-101.
13. Oksanen, J., Ahvenainen, J., and Home, S. 1985. Microbial cellulase for improving filtrability of wort and beer. *Proc. Eur. Brew. Conv. (Helsinki)* 20, 419-425.
14. Palmer, G.H. 1989. Cereals in malting and brewing. In "Cereal Science and Technology", Aberdeen University Press, Aberdeen, Ireland
15. Posada, J., Segura, R., Perez, J.B., and Martinez, J.L. 1981. Colloidal stabilization of beer by addition of proteases. *Proc. Eur.*

*Brew. Conv. (Copenhagen)* 18, 443-450.

16. Saletan, L.T. 1966. Carbohydrases of interest in brewing with particular reference to amyloglucosidase. *Proceedings of the 9th Convention, the Institute of Brewing (Australian Section)*, pp. 127-140.

Auckland, New Zealand.

17. Wallerstein, L. 1911. US Patents No. 995,820; 995,823; 995,824; 995,825; 995,826.
18. Wallerstein, L. 1961. Chillproofing and stabilization of beer. *Wallerstein Lab. Commun.* 24, 158-167.

Life being very short, and the quiet hours of it few, we ought to waste none of them in reading valueless books.

인생은 짧고 그 중에서도 조용한 시간은 얼마되지 않으니, 가치없는 책들을 읽느라 시간을 낭비해서는 안 되리라.

- John Ruskin -