

전통누룩을 이용한 ale맥주 제조 및 품질특성

정수지 · 정장호*

세종대학교 조리외식경영학과

Production and properties of ale beer with *Nuruk*, a Korean fermentation starter

Suji Jung and Chang-Ho Chung*

Department of Culinary Science and Food Service Management, Sejong University

Abstract *Nuruk*, a traditional Korean alcoholic beverage starter, was evaluated as an additional saccharifying agent comprising up to 1.5% (w/w) of malt weight in ale-type beer processing. Sample characteristics were monitored during fermentation, ripening, and storage. Beer containing nuruk showed higher numbers of total viable bacteria and yeast cell counts. Additionally, ethanol (6.19-6.35%), color (Standard Reference Method), foam stability (228.49-368.24 Σ), saccharogenic power (307-417), and reducing sugar (3.83-5.25%) increased as the amount of nuruk was increased, while viscosity (3.13-2.07 cP) and bitterness unit (19.68-13.13) were lower than in samples without nuruk. Overall acceptance and aftertaste of the beer were significantly higher in a preference test. These results demonstrate that nuruk can be used to produce a new type of ale.

Keywords: Beer, *Nuruk*, fermentation, saccharification, ale

서 론

술의 제조를 위한 발효 방식에는 맥주와 같이 당화와 발효 공정이 구분되는 단행 복발효방식과 막걸리, 약주, 청주 등 당화와 발효가 동시에 일어나는 병행 복발효방식이 있다(1,2). 맥주는 기원전 4000년경부터 기록된 세계에서 가장 오래된 음료 중 하나이며 보리, 홉(hop), 물을 주원료로 이용해서 만들며 효모를 통해 발효되는 알코올음료로(3) 당화와 발효가 순차적으로 진행되는 대표적인 단행복발효주의 한 형태이다.

맥주는 녹말을 당화하기 위해 보리를 발아시켜 사용하고 이때 생기는 α -amylase, β -amylase 효소들이 전분을 분해해 당분을 만들고 생성된 당을 효모가 이용해 발효한다(3). 발효 시 젖산균, 효모 등의 미생물로 인해 성분이 분해되고 합성되면서 유기산이 만들어지고, 독특한 맛과 향을 주는 향미 성분을 갖고 있으며 기호성, 저장성이 향상된다(4). 효모는 당을 분해 해 알코올(alcohol)과 이산화탄소(CO_2)를 만들어내는 맥주의 필수적 요소로, 효모 종류에 따라 상면발효 맥주와 하면발효 맥주로 나뉜다(5). 하면발효는 7-15°C에서 발효시키는 라거(lager) 맥주 제조에 사용되며, 주로 *Saccharomyces uvarum*가 속하고 균체가 하부로 침강하는 특징이 있다. 상면발효는 18-22°C에서 발효시키는 ale 맥주 제조에 사용되며 주로 *Saccharomyces cerevisiae*가 속하고 균체가 표면 위로 뜨는 특징이 있다(3). 홉은 직접 맥주의 알코올 생성에는 반

응하지 않으나 부패균을 저해하고, 홉 수지에 포함되어 있는 α -, β -acid의 이성질화 반응을 통한 물질들이 구조적으로 변화해 맥주 특유의 향과 쓴맛을 만든다. 이 중 강한 쓴맛을 내는 알파산(α -acid)에는 휴몰론(humulone), 코휴몰론(cohumulone), 애드휴몰론(adhumulone)으로 α -acid는 맥주의 쓴맛과 거품이 남아있게 하는 포지에 필수적인 요소이며 쓴맛 조절의 지표 값으로 사용된다(6).

2014년 4월, 주세법이 개정되면서 소규모 맥주 제조업체에서도 맥주를 판매할 수 있게 되었다. 이에 따라 그동안 대량생산에 의해 생산되는 하면 발효인 저온숙성방식의 larger계 맥주 종류가 주를 이루던 맥주 시장이 소규모업체들에서 생산되는 상면 발효인 중온숙성방식의 ale계 맥주 종류를 접하게 되면서 소비자는 자신의 취향에 맞는 다양한 맥주를 맛보고 폭 넓은 선택을 할 수 있게 되었다. 또한, 수입 맥주 시장의 확대로 각 국가와 지역별 생산 맥주 등이 소개되면서 개인의 기호성과 다양성을 충족시켜 줄 수 있는 독특한 맥주 제조에 관심이 증가되었다(6-8). 맥주관련 부원료 및 효소 등의 응용연구로는 쌀 부원료(adjunct)(9), 효소 및 아미노산에 의한 쌀 맥주 품질개선(10), 보리의 베타아밀레이스(β -amylase)와 papain에 소량의 α -amylase의 혼합과 누런누룩곰팡이(*Aspergillus oryzae*)에서 생산된 α -amylase 이용(11) 등의 연구가 진행되었다.

한편 한국의 전통 누룩은 주로 밀을 건조한 후 분쇄해 물과 함께 버무리고 물이 잘 흡수되도록 방치한 뒤 성형, 발효, 건조를 거쳐 만들어진다. 곡자라고도 불리는 전통 누룩은 제조 시 환경으로부터 이행된 곰팡이, 효모, 세균 등이 자라고, 이 미생물의 전분 분해 효소로부터 당화가 진행된다. 누룩은 단일 배양균을 이용한 조효소제 또는 고지(koji)와는 미생물학적 분포가 현저히 다르고 발효 후에도 맛과 향이 누룩을 이용할 때 더 다양한 것으로 나타났다(12). 단행복발효인 맥주는 당화 시 효모의 발효 향상을 위해 일반적으로 효소제나 β -amylase를 첨가한다(11). β -

*Corresponding author: Chang-Ho Chung, Dept. of Culinary Science and Food Service Management, Seoul, 05006, Korea
Tel: +822-3408-3222

Fax: +822-3408-4313

E-mail:

Received October 13, 2016; revised December 27, 2016;

accepted December 28, 2016

Amylase는 내산성을 가졌고, 누룩 존재 미생물 중 거미줄곰팡이속(*Rhizopus*)과 누룩곰팡이속(*Aspergillus*)의 곰팡이 효소들은 β -amylase를 가지고 있다(11)는 점에서 맥주 당화과정에 첨가함으로써 맥주 발효 향상을 위해 사용하는 효소제들을 보충하거나 대체할 수 있는 것으로 판단하였다. 따라서 본 연구는 우리나라 대표 곡물주의 당화발효제인 전통제조방식의 시판 누룩을 맥주 제조 시 당화과정에 첨가함으로써 발효방식 개선과 새로운 관능적 품질을 가진 ale 맥주 제조 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 맥아는 2014년 재배 수확한 2조 보리로 에일 맥아(Pale Ale, Weyermann, Banberg, Germany)를 사용했고,

Table 1. Formulas of beer with added Nuruk

Samples	Ingredients (g)					
	Water	Malt	Nuruk	Hop	Yeast	Sugar
C ¹⁾	6000	1000	0	12.5	0.82	8
N5 ²⁾	6000	995	5	12.5	0.82	8
N10 ³⁾	6000	990	10	12.5	0.82	8
N15 ⁴⁾	6000	985	15	12.5	0.82	8

¹⁾Control; No addition of nuruk in saccharification

²⁾N5; 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

³⁾N10; 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

⁴⁾N15; 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

페일에일, IPA 맥주에 많이 사용되는 cascade 홉(cascade hop AA 5.4% beer school, USA)을 사용했다. 효모(활성 건조효모 Safale us-05, Bision Co., Sungnam, Korea)는 에일 맥주를 만드는 상면 발효용을 사용했고, 누룩(Sansung Nuruk Co., 국내산, 밀 100%, Busan, Korea)은 크기를 균일하게 하기위해 분쇄기(1022SS, Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 1분 동안 분쇄하였다.

맥주 제조

맥주를 만드는 방법과 재료의 비율은 에일 맥주를 만드는 방법을 응용하여 만들었으며(6) 맥주에 첨가한 재료의 비율은 Table 1과 같다. 맥아와 분쇄한 누룩을 당화조에 넣고 증류수 3 L를 첨가한 후 3분 간격으로 5회씩 섞어주었고, 45, 55, 65°C로 30분마다 온도를 점차 높여 당화력을 촉진하고 75°C까지 온도를 높여 맥아 자체에 있는 효소를 불활성화 시켰다(6,13).

당화 후 조리용 채반을 이용하여 맥아를 여과시키고 추가로 78°C의 증류수 3 L를 천천히 부어서 맥아에 붙어있는 당분들을 추출하면서 맥즙을 제조하였다. 여과방식을 통해 얻은 맥즙에 홉을 넣고 가스레인지로 1시간 동안 끓여 홉의 성분을 충분히 추출한 후, 25°C로 냉각시키고 건조 효모 Safale us-05를 투입하였다. 효모 첨가량은 맥아즙 1 mL 당 1×10^7 CFU 수준으로 하였으며 첨가 후 air lock을 장착해 효모 활성을 높여주었다(5,6). 20°C에서 5일 동안 발효시킨 후 원심분리기(centrifuge, HMR-220IV, Hanil Co., Seoul, Korea)를 이용하여 7200×g로 20분 동안 원심분리하여 부유물을 제거하였다. 그 후, 병입 시 8 g의 설탕을 저장 용기에 넣고 20°C에서 7일간 숙성시키고, 4°C에서 14일간 저장하며 실험하였다(Fig. 1).

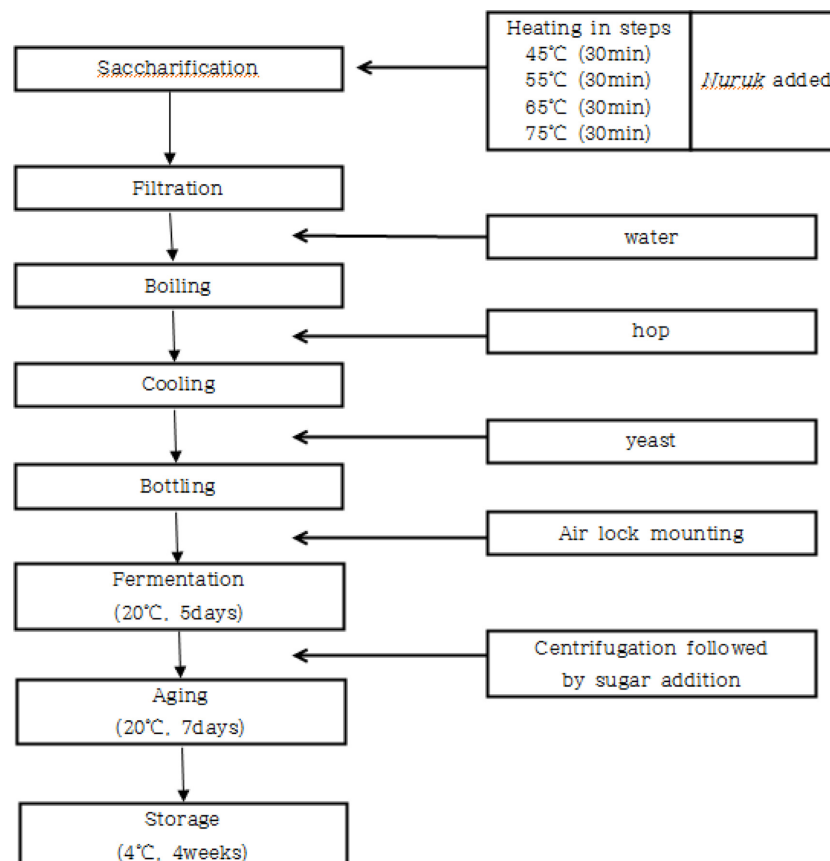


Fig. 1. Flow chart for preparing beer with added Nuruk.

가용성 고형분 함량과 pH

맥주 시료의 가용성 고형물의 함량 측정은 각 시료 1 mL를 micro-tube에 넣고 8,200×g로 10분 동안 원심분리기(centrifuge 5415C, Beckman Inc., Fullerton, Germany)에서 원심분리한 후 사용하였다. 그 후 굴절당도계(Model PR-101, "Brix 0-45%, Nippon-optical works Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 당도를 3회 반복 측정하여 평균값을 구하고 °Brix%로 표시하였다. pH는 맥주 온도를 25°C로 유지하며 10 mL를 pH meter (pH meter, 920A, Orion research, Boston, MA, USA)로 3회 측정하였다.

미생물균수

총 균수와 효모균 수를 측정하기 위해 각각 평판우무배지(Plate Count Agar; Difco, NJ, USA)와 YMPGA (Yeast Extract 0.3%, Malt Extract 0.3%, Peptone 0.5%, Glucose 1%, Agar 2%)에 chlortetracycline hydrochloride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), chloramphenicol (Sigma-Aldrich)를 각각 0.04% 넣은 고체 배지를 만들어 생균수를 측정하였다. 균수의 측정은 희석법을 이용하여 고체배지에 0.1 mL 도말하여 30°C 항온기에서 48시간 배양한 후 집락수를 계수해 콜로니형성단위(Colony Forming Units; CFU/mL)로 나타내었다.

색도

맥주의 색은 맥주 5 mL를 투명한 플라스틱페트리접시(plastic petridish; 35×10 mm)에 넣고 색차계(Chroma Meter, CR-300, Minolta, Osaka, Japan)를 사용해 명도를 나타내는 L값(lightness), 적색을 나타내는 a값(redness), 황색을 나타내는 b값(yellowness)을 측정해 나타냈다. 색도(Standard Reference Method; SRM)는 주류 분석규정(14)과 ASBC(15) 방법을 응용해 맥주의 흡광도를 430 nm에서 측정하여 그 값에 10을 곱한 값으로 색도를 계산하였다.

점도

저장기간에 따른 맥주의 점도는 실험용점성계(Viscometer, LVDV-I prime, Brookfield, Middleboro, MA, USA)를 사용해서 20°C에서 3회 반복 측정하였다.

쓴맛

쓴맛(Bitterness Unit, BU)의 측정은 주류분석규정(14)에 따라 맥주 100 mL를 삼각플라스크에 넣고 octyl alcohol 20 µL, 6 N HCl 0.5 mL와 20 mL 2,2,4-trimethylpentane을 넣은 후 250 rpm의 일정한 속도를 유지하며 좌우로 움직이는 항온수조(ESV3025-W, Polyscience, IL, USA)에 넣고 15분간 섞어주었다. 상층액을 취하여 자외선분광광도기(Du730, Beckman coulter, Inc, CA, USA)를 이용하여 275 nm에서 흡광도 A를 측정하였다.

$$BU = \text{흡광도}(A) \times 50$$

아미노산도

누룩을 첨가한 맥주의 아미노산 측정을 위해 주류분석규정(14)에 따라 95% 에탄올(ethanol)에 페놀프탈레인(phenolphthalein) 0.5 g을 용해한 지시약과 포말린(formalin) 50 mL에 지시약을 가하고 0.1 N 수산화소듐(NaOH) 용액으로 담홍색이 될 때까지 중화한 것에 물을 가해 100 mL로 만든 중성 formalin 용액을 사용했다. 시료 10 mL에 phenolphthalein 용액을 가하고 0.1 N NaOH 용액으로 담홍색이 될 때까지 중화한 후 중성 formalin 용액 5 mL를 가해 유리된 산을 0.1 N NaOH 용액으로 담홍색이 될 때까지 적

정하고 소비된 NaOH 용액의 부피(mL)를 A라고 하고 주류분석규정에 따른 총산의 역가를 F로 하여 아미노산도 공식에 대입하였다.

$$\text{아미노산도} = A \times F$$

$$\text{Glycine 산출 (g/100 mL)} = \text{아미노산도} \times 0.0075 \times 10$$

거품 안정성

하부에 코크(cock)가 있는 유리칼럼에 시료 50 mL를 붓고 30 초 후 거품 이외의 하층 액을 cock을 열어 제거한 후에 cock을 다시 막았다. 그 후 230초간 거품이 깨지도록 한 뒤 깨진 거품 양(b)과 남은 거품 양(c)을 측정하여 다음과 같은 식을 이용해 거품 안정성(sigma, Σ)을 산출하였다(9,15).

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

당화력

각 누룩의 당화력 측정은 2% 가용성녹말 용액을 기질로 하여 주류분석규정(14)에 따라 측정하였다. 2%의 물에 녹는 녹말용액 50 mL, pH 5.0의 식초산 완충용액 30 mL를 150-200 mL 플라스크에 넣고 55°C의 항온 물중탕기에서 10분간 예열하고 방치한 후 효소 용액 10 mL를 가하여 60분간 당화 시켰다. 0.5 N NaOH 10 mL를 가하여 효소작용을 중지시킨 후 냉각해 1% 메틸렌블루(methylene blue) 지시약을 2-3방울 가하고 포도당 표준 용액으로 적정하여 당화력(Saccharogenic Power, SP)을 계산하였다. 1 SP는 상기실험조건 하에서 1시간에 효소 1 g이 10 mg의 포도당을 생성하는 양으로 정의하였다.

$$\text{당화력(SP)} = \frac{(\text{Blank} - \text{소비 mL}) \times 2 \times \text{희석배수}}{\text{효소 반응액 첨가량}}$$

환원당

환원당은 주류분석규정에 명시된 Lane-Yenonoe법 및 Betrand법의 변법을 사용하였으며 실험 방법은 당화력 측정방법과 같다. 아래 식을 이용하여 환원당 함량을 측정하였다(16).

$$\text{환원당(\%)} = \frac{(\text{Blank} - \text{적정량})}{\text{시료 첨가량}}$$

HPLC 유리당, 유기산 함량

시료의 유리당, 유기산 분석을 위해 시료의 상등액을 취해 3차 증류수로 희석한 후 0.2 µm 막거르개(membrane filter; Whatman, Clifton, NJ, USA)를 이용해 여과하였고, HPLC (2487, Waters Co., Milford, MA, USA)를 이용해 분석하였다. 유리당 분석의 표준시약은 포도당(glucose), 설탕(sucrose), 엿당(maltose), 과당(fructose) 및 에탄올(ethanol)로 특급시약(Sigma-Aldrich)을 사용하였다. Column은 Aminex HPX-87c (300×7.8 mm, Bio-rad Lab, Hercules, CA, USA)를 사용하였으며 Column 온도는 85°C, 이동상 유속은 0.6 mL/min으로 하였고 검출기는 Refractive Index Detector (RI 2414, Waters Co.)를 사용하였다. 유기산 분석의 표준물질은 말산(malic acid), 아스코브산(ascorbic acid), 젖산(lactic acid), 아세트산(acetic acid), 시트르산(citric acid), 석신산(succinic acid)으로 특급시약(Sigma-Aldrich)을 사용하였다. Column은 Luna 5 µm C₁₈ (250 nm×4.2 mm, phenomenex, Torrance, CA)를 사용하였으며 Column 온도는 40°C, 이동상 유속은 0.5 mL/min으로 하였고 검

출기(UV 2487, Waters Co.)를 이용하여 210 nm 검출 파장에서 측정하였다. 유리당과 유기산 농도는 각각 성분의 HPLC 면적 값을 표준용액의 검량곡선을 이용해 농도를 측정하였다.

관능검사

본 실험은 주류학과 관련된 수업을 듣는 S 대학교 학생 55명을 대상으로 9점 척도법(9: 대단히 좋음 5: 보통 1: 대단히 나쁨)으로 이루어졌다. 본 실험에서는 C, N5, N10, N15 4가지 각 시료에 세 자리 난수표를 코드화한 후 Williams' Latin square 법에 따라 random으로 제시하였고, 관능평가는 ANOVA 및 Duncan의 다범위검정을 통하여 $p < 0.05$ 에서 유의적인 차이를 검증하였다.

통계 분석

실험결과는 SPSS 프로그램(SPSS 12.0 for windows, SPSS Inc.)을 사용하였고 분산분석(ANOVA)을 실시하였다. 각각 측정 평균값 간의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 Duncan의 다중범위시험법을 사용해 검증하고자 하였다.

결과 및 고찰

가용성 고형분 함량과 pH

Fig. 2와 같이 발효가 시작될 때 가용성 고형분은 16°Brix였고, 5일 발효 후 8.2-8.6°Brix까지 계속 감소하였다. 이는 효모가 에너지원으로 맥즙 내 존재하는 유리당을 사용한 것으로 판단된다(17). 일반적으로 효모가 이용할 수 있는 발효성 당류(포도당, 설탕, 엿당, 말토트라이오스(maltotriose))들은 효모의 생리작용을 통해 에탄올 및 이산화탄소로 변환이 이뤄지게 되며(17), 누룩 함량별 가용성 고형분의 유의적인 차이는 없었지만 HPLC로 측정된 유리당(Fig. 7) 결과에서 발효 기간 동안 엿당, 포도당은 누룩 함량이 많을수록 빨리 소모되었고, 발효성 당류가 줄어들면서 생기는 에탄올 또한 대조구보다 누룩 함량이 증가할수록 수치가 높았다. 한편, 발효 기간 5일이 지난 후 여과하여 설탕을 첨가해 효모가 잔당을 발효하고 이산화탄소를 생산하여 그로 인해 숙성기간인 6일째 약 0.5-0.7 상승해 8.7-9.3°Brix로 유지되었다. 설탕을 첨가한 이후로 숙성기간(6일-13일)을 거쳐 저장 기간(14일-41일) 동안의 값은 8.3-8.7°Brix로 나타났다.

완성된 맥주의 pH는 맥주의 맛, 물리적 및 미생물학적 안정성에 영향을 주고 효모의 성장과 맥아즙 완충 능력을 자극하고 맥주의 맛, 잠재적인 혼탁 안정성을 주는 것으로 보고되어 있으며(18) 모든 시료의 경우, 발효 초기 pH (Fig. 3)는 0일-2일까지 5.7에서 pH 4.1-4.2까지 급격히 떨어졌다. 이는 맥주의 효모의 대사과정으로 인해 발효가 활발하게 일어나면서 이산화탄소의 생성과 용해도가 증가하면서 pH가 낮아진 것으로 판단되며 누룩 함량별 유의적인 차이는 없었다. 이는 유기산의 경향성에서도 모든 시료에서 비슷한 경향을 보이는 것으로 확인 할 수 있었다(Fig. 8). pH는 발효 기간과 숙성기간에 4.2-4.4 정도로 유지하다가 4°C의 저장 기간 이후 제조완성된 맥주는 pH 4.1-4.2의 범위로 낮아졌다. 발효 맥주의 정상 pH는 4.2-4.4이고 맥주가 완성되었을 때의 pH는 4.0이거나 더 낮다는 선행연구(18)와 비슷한 경향을 보였다.

총 균수 및 효모균 수

발효, 숙성, 저장 기간에 따른 총 균수(Fig. 4), 효모균 수(Fig. 5)를 계수하였을 때 두 배지에서 비슷한 균수를 나타냈고 균의

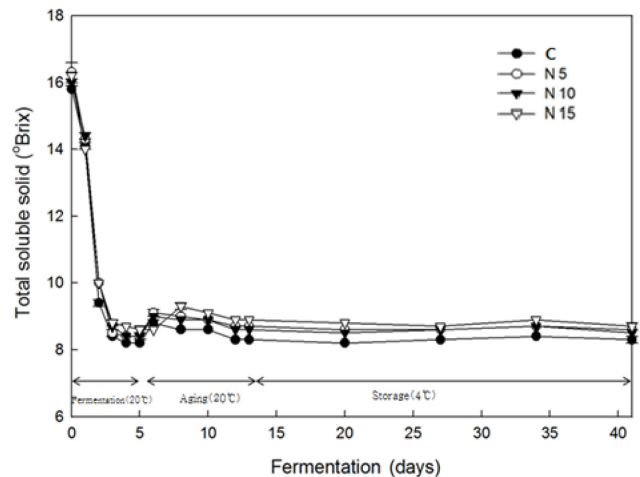


Fig. 2. Changes in total soluble solids during beer fermentation. C, No addition of nuruk in saccharification; N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

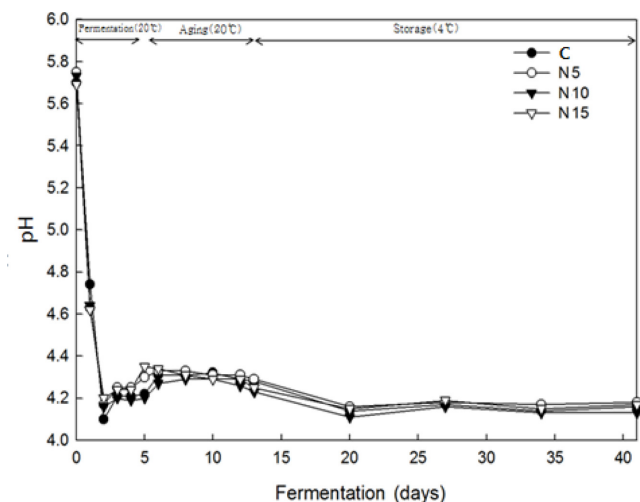


Fig. 3. Changes in pH during beer fermentation. C, No addition of nuruk in saccharification; N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

대부분은 효모균으로 판단되었다. 발효를 시작하고 효모균은 대체적으로 1일에 약 10^7 CFU/mL에서 5일은 최대 1.42×10^7 CFU/mL의 생균수를 보여 큰 차이 없이 약간 증가하는 경향성을 보였다. 숙성과정 전 원심분리를 통한 여과과정을 거친 6일째에는 약 10^4 - 10^5 CFU/mL 까지 균수가 줄었다가 병입을 하는 과정에서 공기접촉과 숙성과정 중 설탕 첨가로 인한 탄소원의 증가로 다시 효모균이 증가하면서 13일째에는 약 10^6 CFU/mL로 다시 증가하였다. 맥주 효모로 쓰인 *Saccharomyces cerevisiae*는 생육속도가 빠르고 알코올 내성이 우수하므로(6), 효모 증식이 숙성기간 빠르게 회복 증식하는 것을 확인하였다. 숙성 후 4°C에서 4주의 저장 기간을 거치는 동안 효모는 세포 내 대사 조성물들은 세포막을 통해 환경과 반응하며 신진대사를 조절하고 용존산소 이용 여부, 기질 고갈 등을 통해 외부 환경 변화에 적응한다(17). 저장 기간 동안 낮은 온도와 용존산소 및 탄소원의 고갈로 인해

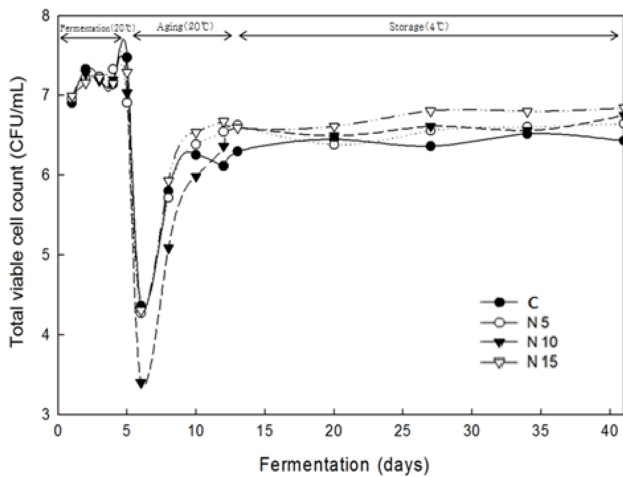


Fig. 4. Total viable bacterial cell counts of beer fermentation. C, No addition of nuruk in saccharification; N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

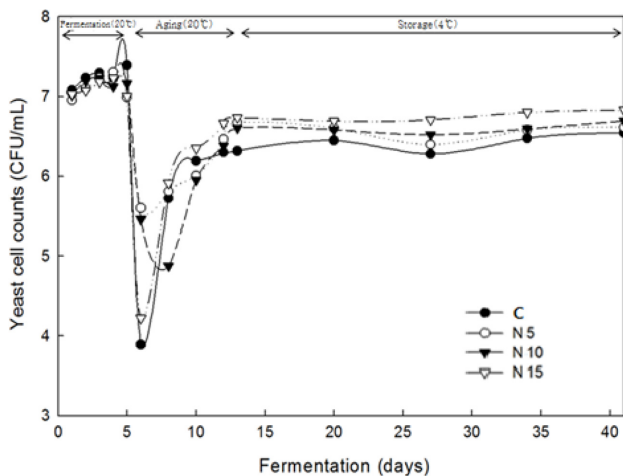


Fig. 5. Total yeast cell counts of beer fermentation. C, No addition of nuruk in saccharification; N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

발효와 숙성기간만큼 균수가 큰 폭으로 늘어나지 않았다. 그럼에도 누룩의 첨가량이 많아질수록 총 균수와 효모균 수 상대적으로 높았다(Fig. 4와 5). 이는 당화과정에서 누룩 내 존재하는 미생물에서 기인한 분해 효소들이 보충적으로 작용하면서 탄수화물 기질들의 분해가 높아져 당분과 같은 가용성 물질들(Fig. 2)이 상대적으로 높았기 때문에 균수와 대사산물인 에탄올 양도 많은 것으로 판단되었다. 송 등(19)은 42개 누룩의 미생물학적 분포를 조사하였을 시 *Bacillus amyloliquefaciens*와 *B. subtilis*가 세균 중 우점종으로 보고한 바 있다. 또한 Deb 등(20)이 *B. amyloliquefaciens*의 extracellular amylase의 활성을 온도별로 측정하였을 때 80°C까지 상대적 활성이 소실되지 않았다고 보고 하였다. 또한 일반적으로 세균의 amylase의 경우는 fungal 효소보다 적정온도의 범위가 넓고 다양한 것(21)으로 알려지고 있어 당화과정 이후에서도 일부 누룩유래 미생물의 효소활성이 소실되지 않고 남아 있을 가능성이 있을 것으로 판단하였다.

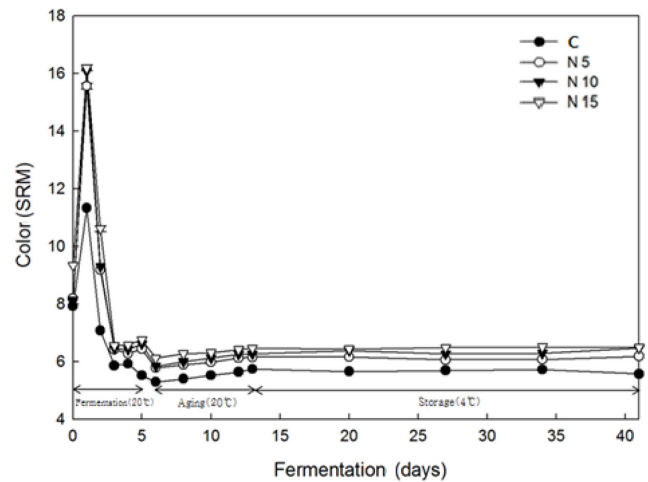


Fig. 6. Changes in beer color (SRM) of beer fermentation. C, No addition of nuruk in saccharification; N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

Table 2. Changes in L, a, b value of beer product

Sample	Color values		
	The difference between the sample		
	L	a	b
C ¹⁾	44.74±0.57 ^{a5)}	-0.43±0.00 ^{ab}	5.33±0.04 ^a
N5 ²⁾	44.69±0.26 ^a	-0.36±0.04 ^b	5.49±0.14 ^a
N10 ³⁾	44.68±0.42 ^a	-0.37±0.14 ^b	5.51±0.17 ^a
N15 ⁴⁾	44.18±0.29 ^a	-0.50±0.28 ^a	6.24±0.45 ^b
F-value	0.818	9.238 ^{*6)}	5.046 [*]

¹⁾Control, No addition of nuruk in saccharification

²⁾N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

³⁾N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

⁴⁾N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

⁵⁾Means in a column by different superscripts are significantly different at 5% significance level by Duncan's multiple range test.

⁶⁾Mean, * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$

맥주의 색

맥주의 색은 주류분석 규정에 따른 SRM (Fig. 6)으로 시료간의 차이를, 색차계(L, a, b) 값으로 제조완성 된 맥주를 측정했다 (Table 2). 흡광도를 이용한 맥주 색(SRM)은 발효가 활발하게 이뤄졌던 발효 초기 1일과 2일에 각각 11-16(SRM), 9-11(SRM) 사이로 높은 수치를 보였고 점점 낮아져 5일에는 약 5-6(SRM)의 값을 나타냈다. 발효가 완화된면서 화합물의 농도가 감소할 뿐만 아니라 CO₂가 생성되면서 발효 5일차에 값이 내려갔다. 이는 맥주의 부유물이 침전 제거되는 것으로 보고된 결과로 판단하였다 (17). 그 이후 원심분리를 통한 여과로 인해 6일에 약간 낮아졌다가 잔당으로 인한 숙성과 저장 기간을 거치면서 6-7(SRM)로 수치가 높아졌고 누룩의 함량이 높을수록 색이 진해지는 경향성을 보였다. 한편, 맥주를 색차계(L, a, b)로 측정하였을 때 명도 L값은 유의적인 차이가 없었고, 적색도 a값은 마이너스로 초록색 계통을 나타냈으며 C, N5, N10은 같은 집단으로 분류되었다. 황색도 b값은 누룩의 함량이 가장 높은 N15만 유의적으로 높은 값을 나타냈다. 맥주색은 기본적으로 초기 맥아 색에 의해 결정되며 당화 및 맥주를 끓이는 동안 맥아에서 melanoidins 반응으로도 형성된다. 이러한 열을 통한 색도의 증가는 보리껍질 또는 흡

Table 3. Properties (viscosity, bitterness, amino acid, foam stability, saccharogenic power and reducing sugar) of beer product

Sample	Beer viscosity (cP)	Bitterness unit (BU)	Amino acid (%)	Foam stability (Σ)	Saccharogenic power (SP)	Reducing sugar (%)
C ¹⁾	4.13±0.30 ^{a5)}	22.02±1.58 ^a	0.041±0.00 ^a	135.62±10.28 ^a	134±19.7 ^a	1.67±0.2 ^a
N5 ²⁾	3.13±0.11 ^b	19.67±1.46 ^b	0.052±0.00 ^b	228.49±31.81 ^b	307±24.0 ^b	3.83±0.3 ^b
N10 ³⁾	2.87±0.23 ^b	16.21±0.28 ^c	0.052±0.00 ^b	316.78±21.24 ^c	338±25.4 ^b	4.22±0.3 ^b
N15 ⁴⁾	2.07±0.23 ^c	13.13±0.08 ^c	0.052±0.00 ^b	368.24±23.25 ^c	417±7.0 ^c	5.25±0.1 ^c
F-value	40.896*** ⁶⁾	140.977***	29.642*	39.670*	68.225***	66.113***

¹⁾Control, No addition of nuruk in saccharification

²⁾N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

³⁾N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

⁴⁾N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

⁵⁾Means in a column by different superscripts are significantly different at 5% significance level by Duncan's multiple range test.

⁶⁾Mean, * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$

에서 유래한 폴리페놀이 산화되면서 맥주를 저장, 숙성하는 동안 맥주색 형성에 기여할 수 있다(22,23). 누룩의 함량이 높아질수록 색도 값이 높아지는 경향은 당화과정에서 누룩의 첨가가 효소제 역할을 하면서 맥아에 있는 폴리페놀, 유리당과 같은 물질들의 생산을 증대시키고 이 물질들이 단백질과 반응하면서 melanoidins 반응성이 높아져 색이 진해진 것으로 추측된다.

점도, 쓴맛, 아미노산, 거품 안정성, 당화력, 환원당

점도는 β -glucan, 아라비노자일란(arabinoxylan) 등 다당류에 의해 유의적인 상관관계가 있고(24) 점도와 쓴맛은 누룩의 첨가량

이 많을수록 수치가 낮았다. 점성(Viscosity (cP))은 C가 4.13±0.30 (cP)로(Table 3) 가장 높은 수치로 나왔으며, N5는 3.13±0.11(cP), N10은 2.87±0.23(cP), 그리고 N15는 가장 낮은 2.07±0.23(cP)값으로 누룩 함량이 많을수록 점도의 값은 낮게 나오는 경향성을 보였다. 이는 당화과정에 누룩 첨가를 통해 생성되는 덱스트린(dextrin)이나 당 물질의 분자량이 상대적으로 작아지면서 점도의 차이가 나타난 것으로 보인다. 쓴맛 또한 순차적으로 C는 22.03±1.58(BU), N5는 19.68±1.46(BU), N10은 16.22±0.28(BU)로 N15는 13.13±0.08(BU)로 누룩의 함량이 많을수록 쓴맛은 낮게 나왔다. 쓴맛(BU)은 맥주 1 L당 포함된 iso- α -acids의 mg의 양이며 쓴맛

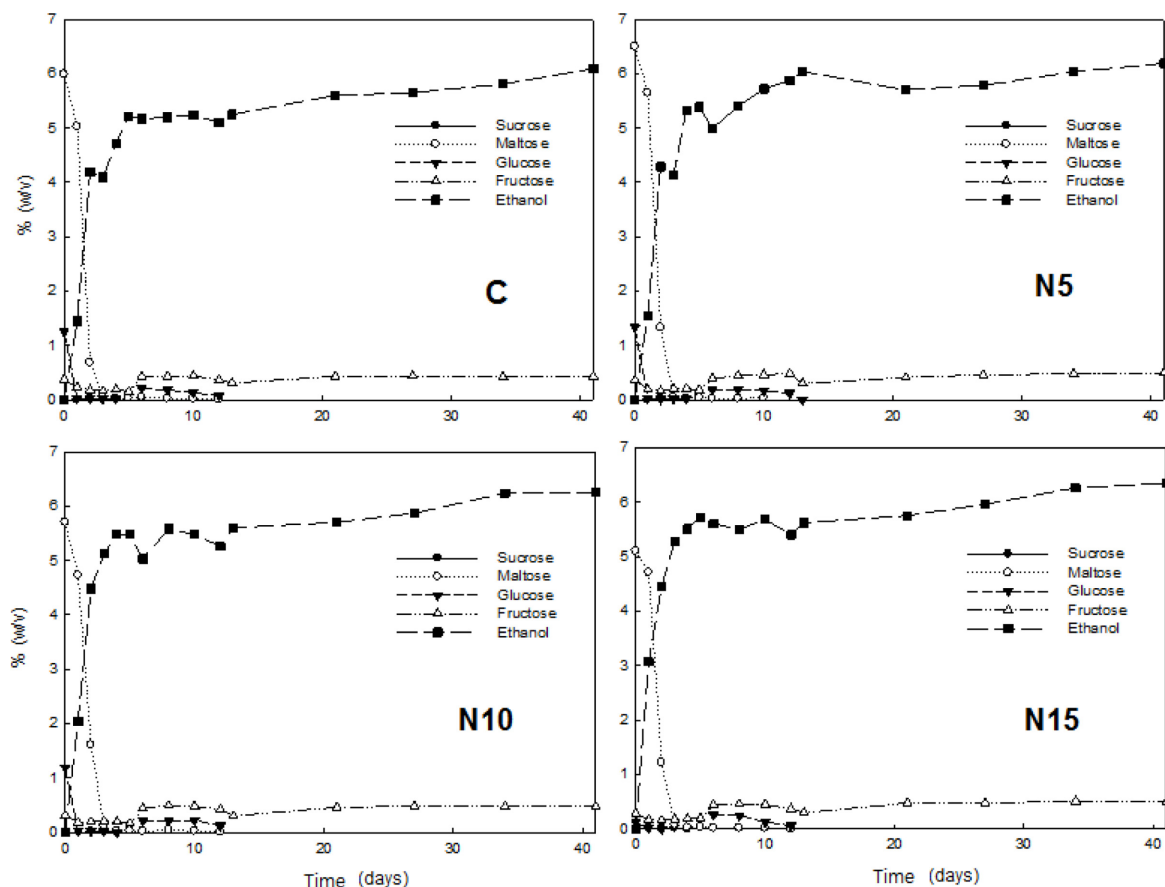


Fig. 7. Changes in free sugars and ethanol of beer fermentation. C, No addition of nuruk in saccharification; N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

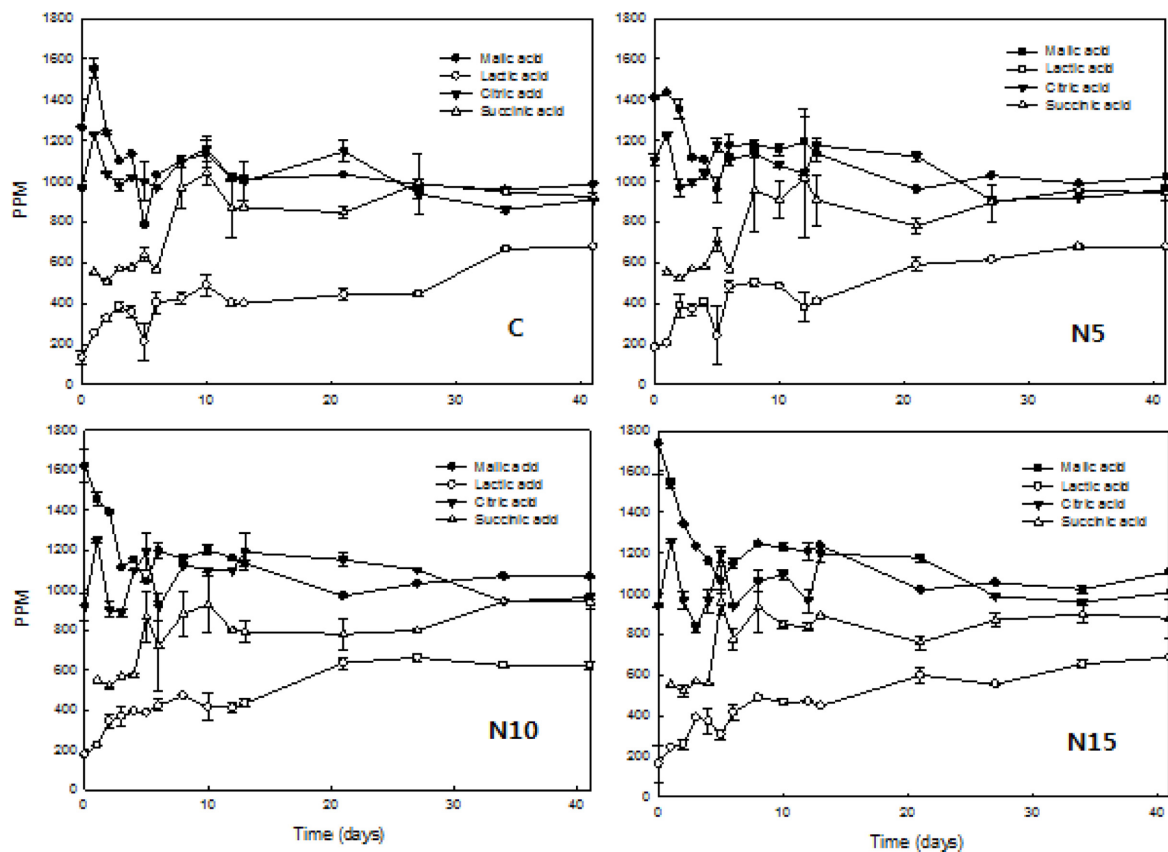


Fig. 8. Changes in organic acids of beer fermentation. C, No addition of nuruk in saccharification; N5, 0.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N10, 1.0% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification; N15, 1.5% (w/w) nuruk to malt weight of control in saccharification

의 정도에 따라 맥주 스타일이 결정된다. 미국과 영국의 ale, larger 맥주는 5-25의 BU를 갖는다(25). 대부분 15-25의 쓴맛을 나타내는 영국 브라운 에일과 10-24의 쓴맛을 나타내는 마일드 에일의 쓴맛 정도와 비슷하였다. 효소첨가로 인해 생성된 당 성분 함량의 증가와 함께 단백질 분해로 인해 쓴맛이 상쇄되는 것으로 보인다(10) 선행연구가 있지만 이 부분에 대한 연구는 더 필요할 것으로 보인다.

아미노산도는 C가 $0.041 \pm 0.00(\%)$ 값으로 가장 낮았고 N5, N10, N15는 $0.052 \pm 0.00(\%)$ 으로 누룩 사용량에 따라서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 거품 안정성(Foam stability (Σ))은 C는 135.62 ± 10.28 , N5는 228.49 ± 31.81 , N10은 316.78 ± 21.24 , N15는 368.24 ± 23.25 로 누룩의 첨가량이 많을수록 거품 안정성이 유의적으로 높은 값을 보였다. 맥주 거품의 안정성은 맥아 단백질, β -glucan, 아라비노자일란, 알콜함량 등과 상관관계가 있고 특히, 거품을 생성하는 것은 단백질로부터 기인되는 폴리펩타이드를 통해 거품 품질을 예측할 수 있는 것으로 보고되었다(26). 본 연구에서 폴리펩타이드의 양을 직접적으로 측정하지는 않았으나 거품안정성이 누룩 첨가량에 따라 높아지는 것으로 보아 누룩의 첨가가 거품 품질을 향상하는데 도움이 되는 것으로 판단되었다. 또한 누룩에 존재하는 *Aspergillus* 계통에서 분비되는 acid protease 효소는 맥주의 산성 pH조건에서 peptide bond를 가수분해하여 거품 형성에 유리한 펩타이드를 공급하여 거품 안정성에 기여(11)할 수 있다고 보고된 바 있다. 당화력(SP)은 아밀레이스의 효소작용을 표시한 것으로 누룩을 첨가하지 않은 C의 당화력은 $134 \pm 19.7(\text{SP})$ 로 가장 낮은 값을 나타내었다. 환원당 또한 C는 1.67 ± 0.2 낮은

값으로 누룩의 첨가량이 많아질수록 당화력이 높아짐에 따라 환원당이 증가하는 것으로 확인하였다. 아미노산도를 제외하고는 누룩의 첨가량이 증가할수록 점도, 쓴맛이 낮아졌으며, 거품 안정성, 환원당 값들이 증가하는 것을 보았을 때 누룩의 미생물에서 기인한 분해 효소들로 인해 맥주 내 존재하는 폴리페놀, 단백질, 탄수화물과 같은 고분자 분자량 물질들이 분해되어 분자량 크기가 작은 물질들로 분해되어 나온 결과와 연관성이 있었을 것으로 추측할 수 있으나 이 부분에 대해서는 확인이 필요할 것으로 판단된다. 누룩 자체의 당화력은 $363 \pm 4.2(\text{SP})$, 환원당은 $4.53 \pm 0.0(\%)$ 로 누룩 10%를 첨가한 N10과 같은 수준의 값으로 나타났다.

유기산 및 유리당

발효, 숙성, 저장 기간에 측정된 유리당 측정결과는 Fig. 7과 같다. 발효 0일에 엿당 농도는 $5.83 \pm 0.5(\%)$ 로 가장 높은 수치를 나타내었고 발효 기간 내내 유의적으로 수치가 낮아졌다. 1일에는 엿당, 포도당, 과당의 양이 유의적으로 줄어들면서, 에탄올이 생성되었다. 이는 효모의 생물학적 발효과정을 통해 엿당은 분해되고 포도당은 효모의 에너지원으로 소모되어 효모가 에탄올과 이산화탄소를 생산하였으며 에탄올은 $1.45 \pm 0.1(\%)$ 인 대조구에 비해 누룩의 첨가량이 증가할수록 1.54 - $3.07(\%)$ 로 높은 수치를 나타내었다. 5일까지 발효성 당류는 줄어들고 에탄올은 증가하는 경향이 이어졌다. 발효 기간 후에 여과 및 설당을 첨가하여 숙성과 저장기간을 거치는데 HPLC를 통해 검출되지 않았던 것은 설당을 첨가했던 시기의 pH가 낮고, 발효가 활발하여 이당류인 설

Table 4. Preference scores on beer with *nuruk*

(N=55)

samples	Sensory characteristic ⁵⁾								Overall acceptance
	Color	Flavor	Sweetness	Bitterness	Sourness	Body	Aftertaste	Carbonate	
C ¹⁾	5.47±1.24 ^{a6)}	5.38±1.64 ^a	4.71±2.13 ^a	4.53±2.03 ^a	4.45±2.07 ^a	5.44±1.64 ^a	4.40±1.90 ^a	4.76±1.71 ^a	4.95±2.02 ^a
N5 ²⁾	5.73±1.24 ^a	5.35±1.91 ^a	4.85±2.11 ^a	4.93±1.93 ^a	4.96±2.07 ^a	5.24±1.64 ^a	5.45±2.04 ^b	4.58±1.94 ^a	5.84±1.98 ^b
N10 ³⁾	5.55±1.79 ^a	5.49±1.64 ^a	4.31±1.84 ^a	4.75±2.02 ^a	4.53±2.04 ^a	4.84±1.80 ^a	4.42±1.71 ^a	4.31±1.80 ^a	4.95±1.83 ^a
N15 ⁴⁾	5.87±1.30 ^a	5.53±1.77 ^a	4.40±1.93 ^a	4.67±1.71 ^a	4.80±1.83 ^a	5.18±1.53 ^a	4.76±1.89 ^{ab}	4.51±1.64 ^a	5.45±1.85 ^{ab}
F-value	0.896	0.136	0.899	0.410	0.770	1.247	3.748 ^{**26)}	0.615	2.790 [*]

¹⁾Control, No addition of *nuruk* in saccharification²⁾N5, 0.5% (w/w) *nuruk* to malt weight of control in saccharification³⁾N10, 1.0% (w/w) *nuruk* to malt weight of control in saccharification⁴⁾N15, 1.5% (w/w) *nuruk* to malt weight of control in saccharification⁵⁾9 point hedonic scale (1, very dislike; 5, normal; 9, very like)⁶⁾Means in a column by different superscripts are significantly different at 5% significance level by Duncan's multiple range test.⁷⁾Mean, * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ at 5% significance level by Duncan's multiple range test.

당이 포도당과 과당으로 분리된 후 효모에 의해 사용된 것으로 판단되었다. 맥주는 발효 시 발효성 당류인 포도당, 과당, 엿당, 말토트라이오스의 변환이 이루어지고 맥주효모의 maltase 활성으로 인해 발효 초기에 포도당, 설탕, 과당이 먼저 이용되고 엿당, 말토트라이오스 순서로 당을 이용하는 것으로 알려졌다(17). 맥주효모는 엿당과 말토트라이오스를 세포막을 거쳐 세포 내로 수송하기 위한 투과효소(permease)를 지니고 있는데 이 효소에 의해 세포 내로 수송된 엿당과 말토트라이오스는 포도당 단위로 가수분해 된다(27,28). 또한, 원심분리를 통한 부유물제거 이후 첨가된 설탕은 효모에 의해 사용되어 알코올로 변환되었고, 설탕을 첨가한 후인 6일에 포도당과 과당의 양이 높은 값을 보였다. 6일 이후로 포도당은 숙성기간 내내 줄어드는 경향성을 보였는데 효모가 에너지원으로 사용된 것으로 효모 생균 수 측정결과(Fig. 4)에서 효모의 성장 시기로 확인할 수 있었다. 알코올은 꾸준히 증가하여 저장 마지막인 41일에 N15의 경우 $6.22 \pm 0.1(\%)$ 였고 이는 현재 시판되고 있는 에일 맥주와 비슷한 수준의 알코올 양을 나타냈다.

유기산은 술의 맛을 결정할 때 없어서는 안 되는 중요 요소 중 하나로(4,29) 결과는 Fig. 8과 같다. 유기산은 발효 기간 내내 줄어드는 경향을 보였다. 시트르산은 발효 1일에 가장 높은 수치로 시트르산과 말산은 효모에 의해 발효 초기에 형성된다. 영국 맥주의 경우 맥즙의 시트르산 함량은 거의 효모에 의한 영향을 받으며 시트르산과 말산은 신선한 맛이 있고 혐기적으로 대사하면서 맛의 변화를 일으킨다(4). 발효 1일에 석신산이 처음 생성되었고 이는 선행연구(4)와 같이 발효 초기단계에서 효모로 인해 생성된 것으로 판단된다. 효모는 독특한 풍미를 주어 감칠맛의 석신산을 생성하고, 알코올과 산을 결합해 과일 향을 내는 에스테르를 만들어 내며(4,7,29) 41일까지 계속 늘어나는 경향성을 보였다.

관능검사

누룩을 첨가한 맥주의 관능적 품질특성의 결과는 Table 4와 같이 나타났다. Color, Bitterness, Sourness, Aftertaste, Overall acceptance는 누룩이 첨가된 시료의 기호도가 대조군보다 높았다. 또한, Sweetness, Bitterness, Sourness, Aftertaste, Overall acceptance는 N5가 각각 4.85 ± 2.11 , 4.93 ± 1.93 , 4.96 ± 2.07 , 5.45 ± 2.04 , 5.84 ± 1.98 로 다른 시료에 비해 높은 값을 나타내었다. Body는 C가 5.44 ± 1.64 값으로 가장 높았고, Color, Flavor는 누룩을 가장 많이 첨가한 N15의 기호성이 좋았다. 이처럼 누룩을 첨가한 맥주의 기호

성이 대조군에 비해 대부분 높았던 것은 맥주의 향과 맛이 참가자의 기호도에 적합하고 입안에 남는 Aftertaste에서도 높은 기호성을 통해 Overall acceptance까지 영향을 미쳤던 것으로 보인다.

요 약

시판 누룩을 맥주의 당화과정에 첨가하여 얻은 맥주의 특성을 확인한 결과, 가용성 고형분 함량은 발효 직후에 급격히 줄어들어 숙성기간과 저장기간 동안 비슷한 수치로 이어졌다. pH는 발효 직후 5.7에서 4.1-4.2까지 낮아졌고, 숙성과 저장 기간을 거치면서 비슷한 수치를 유지하였다. 미생물은 대부분 효모균으로 숙성기간인 6일에 약 5.16×10^5 CFU/mL에서 13일 2.92×10^6 CFU/mL로 균수는 증가하였다. 맥주의 색은 SRM 색도와 색차계로 분석한 결과 SRM은 누룩의 첨가량이 많아짐에 따라 발효, 숙성, 저장 기간 내내 높은 수치를 보였다. 색차계에서는 누룩의 첨가량이 많아질수록 명도의 L값은 약간 낮아지고 a값은 마이너스 값으로 초록색에 가깝고 황색도의 b값은 높아지는 경향성을 보였다. 맥주의 점도는 누룩의 첨가량이 많을수록 점도가 낮았다. 쓴맛 또한 누룩 첨가량이 많을수록 낮은 값이 나왔다. 아미노산도는 누룩 첨가구에서 더 높은 값이 나타났으나 첨가구내에서의 차이는 없었다. 거품 안정성은 대조군 135.62 ± 10.28 으로 N15는 368.24 ± 23.25 으로 대조군보다 2배 이상 유의적으로 차이 나는 결과를 보였다. 유리당의 포도당, 설탕, 엿당은 발효, 숙성과 숙성기간 동안 줄어들었고 유기산은 말산, 시트르산이 효모의 대사산물로 발효, 숙성, 저장 기간에 그 수치가 높아졌다. 누룩을 맥주 당화과정의 효소제 역할로 이용한 실험결과를 통해 맥주 공정 중 당화과정에 누룩을 첨가함으로 새로운 특성의 맥주가 생산될 수 있음을 확인하였다.

References

- Hong SS, Byung DP, Bong KK, Lee CH. Quality characteristics of *takju* produced by adding different amounts of water. Korean J. Food Sci. Technol. 43: 453-457 (2011)
- Kim JH, Kwon YH, Lee AR, Kim HR, Ahn BH. Manufacture of *koji* using fungi isolation from *nuruk* and identification of *koji* molds. Kor. J. Mycol. 40: 187-190 (2012)
- Koh JS. Alcoholic Beverage. Yuhan Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 60-70, 90-91 (2005)
- Whiting GC. Organic acid metabolism of yeasts during fermentation of alcoholic beverages-a review. J. I. Brewing 82: 84-92

- (1976)
5. One YH. Story of Beer. Hakmun Publishing Inc., Gyeonggi, Korea. pp. 14-17, 22-25 (2003)
 6. Jo HC. My Own Beer Brewing. Nuxusbook, Seoul, Korea. pp. 13-15, 76-87 (2013)
 7. Kim KH, Park SJ, Kim JE, Dong HM, Park IS, Lee JH, Hyun SY, Noh BS. Assessment of physicochemical characteristics among different types of pale ale beer. Korean. J. Food Sci. Technol. 45: 142-147 (2013)
 8. Chol DC. Study on establishment of micro brewery restaurant. MS thesis, Kyonggi University, Seoul, Korea (2003)
 9. Hyeun SK, Kwon YA, Lee SJ. Quality characteristics of brewed beer with rice adjunct. Food Eng. Prog. 16: 139-144 (2012)
 10. Kwon YA, Lee KG, Hong KW, Lee SJ. Improving qualities of rice beer using enzymes and amino acids. Food Eng. Prog. 16: 151-156 (2012)
 11. Lee SC. Use of enzymes in beer brewing. Korea Alcohol Liquor Ind. Assoc. 17: 50-70 (1997)
 12. Bae SM. Traditional alcoholic drink manufacturing technology: *Takju yakju*. Woogok Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 107-111 (2002)
 13. Kim JH. Multivariate analysis for feasibility of korean six-row barleys for beer brewing. MS thesis, Dongguk University, Seoul, Korea (2014)
 14. NTS. Analysis of Liquor Regulatory. Liquors Licence Aid Center, Seoul, Korea. pp. 1-68 (2008)
 15. ASBC. The Society. American Society of Brewing Chemists. Methods of Analysis, St. Paul, MN. USA (1976)
 16. Lee HS, Park YS, Bai DH. Quality characteristics of *makgeolli* (rice wine) fermented with *koji* by starch types. Food Eng. Prog. 18: 215-221 (2014)
 17. Brnyik T, Vicente AA, Dostlek P, Teixeira JA. Continuous beer fermentation using immobilized yeast cell bioreactor systems. Biotechnol. Progr. 21: 653-663 (2005)
 18. Kaneda H, Takashio M, Tamaki T, Osawa T. Influence of pH on flavour staling during beer storage. J. I. Brewing 103: 21-23 (1997)
 19. Song SH, Lee CH, Lee SH, Park JM, Lee HJ, Bai DH, Yoon SS, Choi JB, Park YS. Analysis of microflora profile in korean traditional nuruk. J. Microbiol. Biotechnol. 23: 40-46 (2013)
 20. Deb P, Talukdar SA, Mohsina K, Sarker PK, Sayem SMA. Production and partial characterization of extracellular amylase enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* P-001. Springerplus 2: 154 (2013)
 21. Naidu MA, Saranraj P. Bacterial amylase: A review. Int. J. Pharm. Biol. Sci. Arch. 4: 274-287 (2013)
 22. Szab E, Borbly M, Sipos P, Cornelia P, Adriana C. Analysis of total polyphenol contents and colour of brewed beer samples. Oradea University. Oradea, Romania. pp. 373-377 (2013)
 23. Granato D, Branco GF, Faria Jde A, Cruz AG. Characterization of Brazilian lager and brown ale beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. J. Sci. Food. Agr. 91: 563-571 (2011)
 24. Han JY, Schwarz, PB. Arabinoxylan composition in barley, malt, and beer. J. Am. Soc. Brew. Chem. 54: 216-220 (1996)
 25. Lee JD. Designing Great Beers. Life Science Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 257-286 (2005)
 26. Bamforth CW, Kanauchi M. Interactions between polypeptides derived from barley and other beer components in model foam systems. J. Sci. Food Agric. 83: 1045-1050 (2003)
 27. Harris G, Thompson CC. The uptake of nutrients by yeasts III. the maltose permease of a brewing yeast. Biochim. Biophys. Act. 52: 176-183 (1961)
 28. Harris G, Thompson CC. Uptake of nutrients by yeasts maltotriose permease and the utilization of maltotriose by yeasts. J. I. Brewing 66: 293-297 (1960)
 29. Kim CH. Food Microbiology. Yuhan Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 28-30 (2004)