

## 카세인을 이용한 치즈곤죽의 발효특성

張海東 · 李炯周

서울대학교 식품공학과

### Fermentation Characteristics of Cheese Slurry prepared from Caseinates

Hae-Dong Jang and Hyong-Joo Lee

Department of Food Science and Technology, Seoul National University, Suwon

#### Abstract

To shorten the processing of cheese slurry, four different slurries, ie, Control, Cheddar 1 and 2, and Italian-type that were made of Na-caseinates, cream, trace elements, lactic culture, and enzymes were fermented at 30°C for 7 days with daily stirring. PH, titratable acidity, soluble nitrogen, viable cell count, active SH groups, total volatile fatty acid, free fatty acid, electrophoretic patterns of degraded caseins, and viscosity were analyzed to investigate physicochemical properties of fermented slurries. Acid production was accelerated in the cheese slurries with protease than that without the enzyme and PH of the former was decreased after three days of fermentation to 4.90. The Change of titratable acidity agreed to PH patterns. Soluble nitrogen of the Control slurry was increased slowly for four days and then rapidly to 40% of total nitrogen while those containing protease to 70%. The protease of lactic cultures used (*Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris*) broke down  $\alpha$ -casein more rapidly than  $\beta$ -casein and most proteins were degraded to peptides and amino acids after three days of fermentation. Total volatile fatty acids were increased by added lipase and free fatty acids composition analyzed by GLC in cheddar slurry with 0.00001% lipase was similar to that of commercial cheddar cheese, while that in Italian-type slurry was a half of that in commercial Italian cheese. Active SH groups were increased in the cheese slurries with glutathione from fourth day of fermentation. The viscosity of slurries decreased very rapidly by addition of protease.

#### 서 론

국민생활수준의 향상과 외국 관광객의 증가로 인하여 고급 식품과 국제 식품의 수요는 날로 증가하고 있으나 이들을 생산하기 위한 기술은 아직 미흡하여 각종 기술도입과 수입이 증가하고 있다. 특히 치즈는 고도의 기술을 요하는 발효 유제품으로서 그 자체로 식용될 수도 있고 또한 액상 또는 분말등 여러 형태로 가공하여 많은 종류의 식품에 대한 풍미물질로 이용될 수도 있으나 치즈의 발효에는 긴 숙성기간과 넓은 장소 및 많은 에너지가 요구된다. 따라서 이제까지 치즈 제조시의 숙성기간을 단축시키기 위해 많은 노력이 있어왔다. Kristofferson과 Singh<sup>(1-3)</sup>은 멸균유에서 얻은 커드를

높은 수분함량과 온도에서 단기간 발효시켜 오랜기간 숙성시킨 치즈의 풍미를 갖는 치즈 곤죽(slurry)을 얻었다. Cheddar 치즈 곤죽의 경우, 발효 최적 조건은 수분함량 60%, 발효온도 30°C, NaCl농도 3%, 발효기간 7일 등이며, 미량성분으로서 환원형 glutathione, MnSO<sub>4</sub>, CoCl<sub>2</sub>, riboflavin, sodium citrate 등이 요구되었고 매일 30초씩 교반해 주었을 때 풍미형성 및 단백질 분해에 좋은 영향을 주었다. 발효중 수용성 질소, 적정 산도 및 환원 SH기의 변화는 cheddar 치즈와 비슷했으며 환원형 glutathione 100ppm을 첨가했을 때 cheddar 치즈 특유의 풍미성분인 환원 SH기의 생성이 활발히 증가되며,<sup>(4-7)</sup> 단백질 분해는 para-K,  $\beta$ ,  $\alpha$ -casein 순으로 증가되었고 첨가된 glutathione은 발효초

기에 단백질 분해를 촉진시켜 유산균의 증식을 크게 증가시켰다.  $\beta$ -casein은 4일 이후 급속히 분해되며 그 분해는 풍미성분의 생성속도와 비례관계를 갖고 있음을 보고했다.<sup>(10)</sup> 같은 저자들은 또한 propionic culture 등을 이용한 swiss 치즈근죽과 젖산으로 casein을 침전시켜서 얻은 커드를 가지고 만든 치즈근죽의 발효<sup>(10,11)</sup>에 대해서도 보고하였는데 자기 좋은 풍미를 위해서는 사용되는 스타터의 종류와 농도, 첨가물, 재료의 열처리 등이 영향을 미친다고 하였다. 한편 Sood와 Kosikowski<sup>(12)</sup>는 단백질 및 지질분해효소를 첨가하여 cheddar 치즈근죽을 제조하였는데, 섬가한 효소는 풍미생성을 가속화시키질 뿐 아니라 수용성 질소와 총휘발성산의 양을 크게 증가시키며 단백질 분해에 의해 생성된 펩타이드와 각종 아미노산은 유산균의 생육에 이용되어서 유산균의 수를 크게 증가시켜 발효 초기에 pH를 떨어뜨렸으나 단백질 분해물인  $\text{NH}_3$ 와 여러가지 화합물에 의해 pH는 다시 증가되는 것을 관찰하였다. 또한 이들은 단백질 분해가 진행됨에 따라 쓴맛 펩타이드가 생겼지만 곧 아미노산과 여러가지 화합물로 분해되어 사라진다고 보고하였다. Attia<sup>(13)</sup> 등은 암선 사람들이 밝힌 최적조건을 이용하여 이집트 고유의 치즈인 Ras 치즈근죽을 제조하여 두달동안 숙성시킨 Ras 치즈와 같은 풍미를 갖는 것을 알았으며, 풍미생성과 화학적 변화에 대한 기여도가 단백질분해효소와 지질분해 효소의 혼합물, 미량원소, Na-citrate 순임을 밝혔다. 치즈 근죽은 액상으로 상품화되어 식용될 수도 있고, 냉동 건조 및 분무 건조 과정을 거쳐 여러가지 용도로 이용될 수 있다. Sutherland<sup>(14)</sup>는 치즈 제조시 숙성치즈 대용으로 치즈 근죽을 사용하여 양질의 가공치즈를 제조할 수 있었으며 첨가되는 치즈근죽의 양은 전체 치즈 원료의 20%가 적당하다고 보고하였다. 또한 Dulley<sup>(15)</sup>은 cheddar 치즈의 숙성을 촉진시키기 위해서 cheddar 치즈 근죽을 첨가하여 숙성기간을 한달 반 단축시킬 수 있었다고 하였다.

본 실험에서는 치즈근죽 제조과정을 단축시키기 위해서 커드를 원유에서 얻지않고 Na-caseinate와 크림을 혼합하여 cheddar 형 근죽과 Italian 형 근죽을 제조하였으며 발효중에 일어나는 여러가지 물리·화학적 특성을 조사하였으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 재료

Na-caseinate는 Milkco. (Netherland) 제품을 사용하였으며 크림은 유가공업체(해태유업)에서 얻은 크림을

사용하였다. 이들의 조성은 다음과 같다.

용유효소는 chris Hansen계의 rennet을 사용하였으며 단백질분해효소는 *Bacillus subtilis*에서 추출한 protease(태평양화학)를, 지질분해효소는 lipase (Miles, No. 600)을 사용하였다. 각종 시약은 G. R. 또는 E. P. 등급의 것을 정제없이 사용하였으며 환원형 glutathione과 전기영동용 시약은 sigma 제품을 사용하였다. 실험에 사용된 균주들은 Hansen lab. 의 것으로 *streptococcus lactis*와 *streptococcus cremoris*를 사용하였다.

### 치즈근죽의 제조 및 발효

#### (가) 유산종균의 배양 (가)

멸균 우유배지 25ml에 *streptococcus lactis*와 *streptococcus cremoris*를 각각 0.25ml씩 접종하여 30°C에서 24시간 배양시켰다.

#### (나) 치즈근죽의 제조

크림 1,142.6g과 Nacaseinate 295.1g을 저으면서 잘 섞은 후 유산종균과 25% 멸균소금물 240ml 그리고 멸균수 216.2ml에 미량원소 (glutathione 0.2g, Na-caseinate 1g,  $\text{MnSO}_4$  0.01g,  $\text{CoCl}_2$  0.008g, riboflavin 0.004g)를 녹인 용액을 첨가하여 잘 섞고, 멸균수 24ml에  $\text{NaCl}$  2g과 rennet 0.24g을 녹인 rennet용액과 멸균수 25ml에 효소를 넣은 용액을 함께 혼합하여 2,000g의 치즈근죽을 제조하였다. 효소의 첨가여부 및 양 그리고 환원형 glutathione의 첨가 여부에 따라 control, cheddar-type 1 (cheddar 1), cheddar-type 2 (cheddar 2) Italian 등 4 종류의 치즈근죽으로 나누었으며 이들의 조성은 다음과 같다 (Table 1).

#### (다) 치즈근죽의 발효

4 종류의 치즈근죽을 매일 30초간 교반기로 교반하면서 30°C 배양기에서 일주일 발효시켰다.

### 치즈근죽의 분석

매일 30초씩 교반한 후 시료를 채취 해 다음의 분석을 하였다.

#### (가) pH

발효기간동안 매일 일정한 시간에 pH meter로서 측정하였다.

#### (나) 적정산도

10g의 치즈근죽에 0.5N Na-citrate 40ml와 증류수를 가해 105ml가 되게 하여 교반기로 5분간 교반한 다음 여과하고 2.5g에 해당하는 여과액을 0.1N NaOH로 적정하였다.

#### (다) 수용성 질소

치즈근죽 10g에 0.5N Na-citrate 40ml와 증류수

Table 1. Composition of Control, Cheddar 1, Cheddar 2 and Italian-type cheese slurries

Components	Control	Cheddar 1	Cheddar 2	Italian
			%(w/w)	
Moisture	60	60	60	60
Fat	21	21	21	21
Protein	14.4	14.4	14.4	14.4
NaCl	3	3	3	3
Lactose	1	1	1	1
Lactic culture	5	5	5	5
Rennet	0.012	0.012	0.012	0.012
Glutathione	0.01	0.01	0.01	0
Na-citrate	0.05	0.05	0.05	0.05
MnSO <sub>4</sub>	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005
CaCl <sub>2</sub>	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004
Riboflavin	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
Protease	0	0.001	0.001	0
Lipase	0	0	0.00001	0.0001

80ml를 가한 후 교반기로 7분간 고속으로 교반하고 200ml 용량 Flask에 넣어 20℃로 유지하면서 눈금까지 증류수를 첨가하였다.<sup>(12)</sup> 다음 1.41N HCl 10ml을 100ml Na-citrate-치즈근죽 용액에 첨가하고 증류수를 첨가하여 125ml가 되게 하였으며 (pH 4.4 ± 0.5) 이 용액을 여과(Whatman No. 42)한 후 얻은 용액을 마이크로 펠달법<sup>(16)</sup>으로 정량하였다.

#### (라) 생균수 측정

멸균유발에서 치즈근죽 1g에 멸균수 9.5ml와 Na-citrate 0.2g을 가하고 마쇄하여 적당 배율로 희석한 다음 표준평판배양법에 의해서 생균수를 측정하였으며 생육 배지로는 유산균 선택배지인 deMan, Rogosa and Sharpe Agar 배지<sup>(17)</sup>에 sodium azide를 0.01% 첨가하여 121℃에서 15분간 가압살균한 후 사용하였다. 생균수는 30℃에서 48~72시간 증충배양한 후 colony counter로 측정하고 희석배율을 곱하여 나타내었다.

#### (마) 활성 SH기

활성 SH기의 농도는 5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)와의 반응후 여액의 흡광도를 412nm에서 측정함으로써 정량하였다.<sup>(4, 18, 19)</sup>

#### (바) 총 휘발성산

치즈근죽 100g에 증류수 500ml를 넣고 교반한 다음 6N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 가해 pH 2.0으로 조절하고, 미량의 소포제를 넣어 한시간 수증기 증류한 다음 phenolphthalein을 지시약으로 첨가한 0.1N NaOH (30ml)에 유출액을 받아 Na염을 형성시킨 후 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 역적정하여 중화시키는데 필요한 Na이온의 mole수로 총 휘발성산의 양을 나타내었다.<sup>(20)</sup>

#### (사) 점도

치즈근죽 200g을 250ml 비이커에 넣고 항온수조에서 30℃로 유지하며 Viscometer (Brookfield, Synchro-Lectric Model LVT)로 측정하였다.

#### (아) 단백질 분해를 위한 전기영동 분석

casein의 polyacrylamide gel 전기영동은 Thompson<sup>(21)</sup>의 buffer와 gel 그리고 수직형 slab gel 전기영동장치를 사용하였다. 치즈근죽 0.5g에 6M buffered urea 5ml를 넣고 4℃에서 하룻 밤을 정치한 다음 지방층을 제거하여 시료를 제조하였으며 제조된 시료에 sucrose를 8%로 첨가하고 mercaptoethanol과 진한 bromophenol blue를 각각 한 방울씩 가하여 전기영동시료로 하였다. 시료 25μl를 gel slot에 넣고 전압을 100V (20mA)로 하여 15분간 유지하고 10mA/10min 속도로 전압을 증가시켜 최종전압을 250V가 되게 하였다. gel은 amido black으로 2분간 염색시킨 다음 7% acetic acid 용액에서 탈색시켰다.<sup>(19)</sup>

#### (자) 유리 지방산

① 유리 지방산의 분리: 치즈근죽 1g을 100μg glutamic acid, 0.1ml 4N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 3g 무수 sodium sulfate가 들어있는 5ml diethyl ether에 넣고 균질화시킨 다음 1시간 이상 방치한 후 hexane 5ml를 첨가하여 원심분리(2,000g/5min)을 행하였다. 여기서 얻은 hexane-diethyl ether 용액을 glass chromatography column (1g neutral alumina, 1cm × 20cm)을 통해서 두번 반복하여 흘려보내고 column에 남아 있는 triglyceride를 제거하기 위해 1:1 (v/v) hexane-diethyl ether 5ml를 3ml/min 속도로 두번 씻어 주었다.<sup>(22)</sup> 유리 지방산

을 흡착한 alumina는 진공하에서 건조시킨 뒤 6% formic acid가 들어 있는 diisopropyl ether 1ml를 첨가하여 원심분리(2,000g/5min)를 행하고 얻은 용액을 BF<sub>3</sub>-methanol을 이용한 Metcalfe 등의 방법<sup>(23)</sup>에 의해 methyl ester로 만들고 이것을 GLC분석의 시료로 하였다.

② GLC분석조건: 유리된 지방산은 GLC로 분석하였으며 분석조건은 다음과 같았다.

- Instrument: Hewlett Packard Aerograph
- Detector: FID
- Column: 8 feet X 1/4 inch stainless steel silica-CP packed
- Carrier gas: N<sub>2</sub> (25ml/min)
- Column temp.: 140-200°C, programed rate 4°C/min
- Injection temp.: 250°C
- Detector temp.: 290°C
- Chart speed: 0.5cm/min

③ 동정 및 정량 분석: 각 지방산의 동정은 표준품(Varian제)의 retention time과 비교 동정하였고 integrater에 의해서 구한 면적비로부터 각 지방산을 정량하였다.

결과 및 고찰

Na-caseinate와 cream 그리고 여러가지 미량원소 및 효소를 첨가해서 4 종류의 치즈곤죽을 제조한 결과

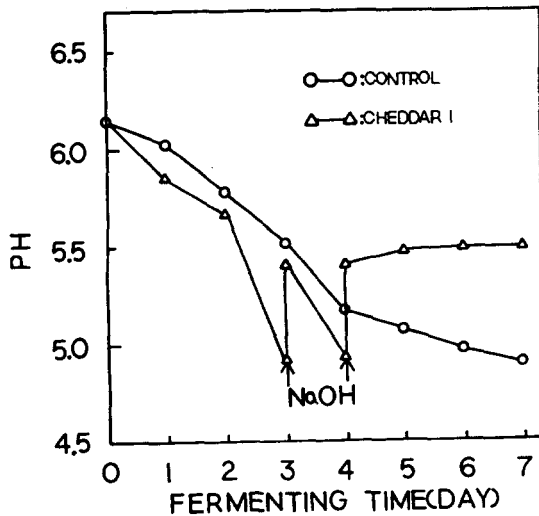


Fig. 1. pH change in Control and Cheddar 1 slurries during fermentation  
 † : adjustment of pH to 5.40 with 5N NaOH

품미가 좋고 단백질과 지질분해가 뛰어난 Cheddar와 Italian형 치즈곤죽을 얻었으며 이들의 발효특성은 다음과 같았다.

단위: % (w/w)				
	Moisture	Protein	Fat	Lactose
Na-caseinate	5.0	90.5	1.0	
Cream	56.0	1.8	36.5	2.7

수소이온 농도

그림 1에 나타난 바와 같이 대조구(control)의 pH는 6.14에서 발효하는 동안 계속 떨어져 4.90까지 내려가는 것을 알 수 있는데 이것은 Kristofferson과 Singh의 보고와 같은 경향이었다.<sup>(10)</sup>

Cheddar 1과 2 (그림 1, 2)는 2 일까지는 대조구와 비슷하게 pH가 감소하다가 3 일후에는 크게 감소하여 4.90까지 내려가는 것을 알 수 있었다. 이때 5N NaOH를 가하여 pH5.40으로 조정하였지만 계속해서 5.0 이하로 감소하다가 Cheddar 1은 5 일 이후에, cheddar 2는 6 일 이후에 5.40으로 올라가 일정하게 유지되었다. 단백질분해효소를 첨가한 Cheddar 1과 2의 pH 감소가 심한 것은 단백질분해효소에 의해 생성된 펩타이드와 각종 아미노산이 유산균의 생육을 촉진시켜 유당에서 젖산을 많이 생성하기 때문이고 5 일과 6 일후 pH가 증가하는 것은 NH<sub>3</sub> 축적 및 여러가지 단백질 분해물에 의한 결과로 추정된다.<sup>(12)</sup>

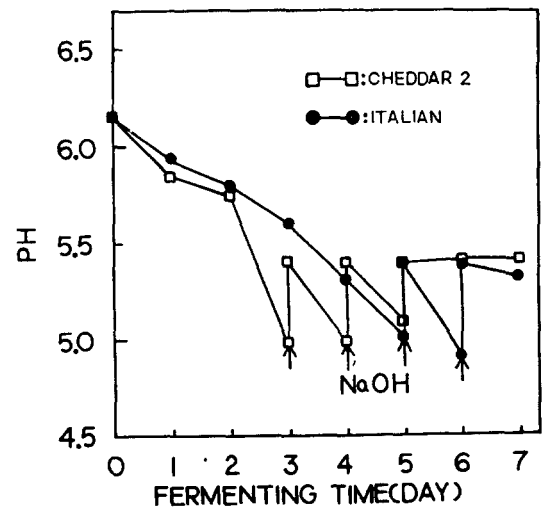


Fig. 2. pH change in Cheddar 2 and Italian-type slurries during fermentation  
 † : adjustment of pH to 5.40 with 5N NaOH

Italian 치즈근죽은(그림 2) 대조구와 비슷한 속도로 5 일까지 감소하였으며 5 일후 pH를 5.40으로 조정한 결과 7 일에는 5.30으로 조금 감소하였다.

**적정산도**

발효중에 나타나는 적정산도의 변화는 그림 3과 4에 나타나 있다. 즉 대조구의 경우 조금씩 증가하여 4 일후 1.1에 이르렀다가 5 일후에는 1.0으로 조금 감소하여 6 일후부터는 조금씩 증가하는 경향을 보였다.

Cheddar 1은 대조구에 비해 적정산도의 증가가 더

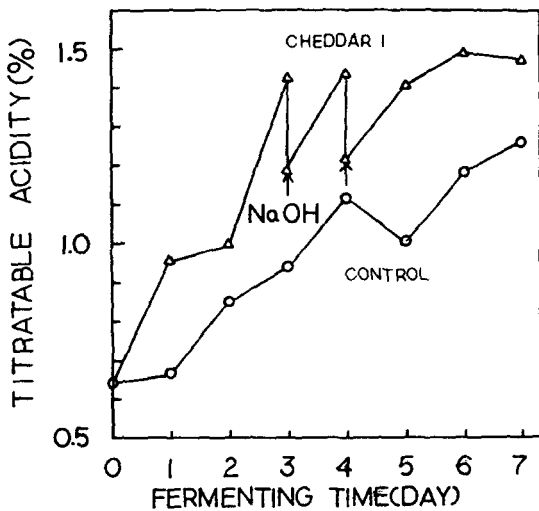


Fig. 3. Change of titratable acidity in Control and Cheddar 1 slurries during fermentation  
 † : adjustment of pH to 5.40 with 5N NaOH

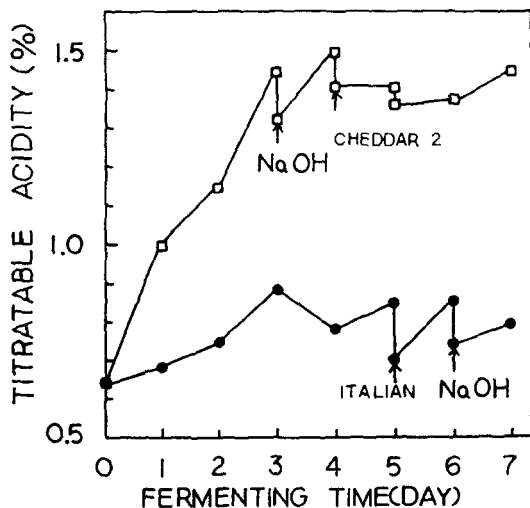


Fig. 4. Change of titratable acidity in Cheddar 2 and Italian-type slurries during fermentation.  
 † : adjustment of pH to 5.40 with 5N NaOH

현저해서 3 일후에는 1.4에 이르렀고 pH조정후에는 1.20으로 조금 떨어지긴 했지만 다시 증가하여 7 일에는 1.47을 나타냈다. Cheddar 1에 지질분해효소를 첨가한 Cheddar 2는 3 일까지는 Cheddar 1과 비슷한양상을 나타내면서 증가하며 pH조정을 한 4 일에도 1.49까지 계속해서 증가하다가 5 일에는 조금 감소하였으나 6 일과 7 일에 다시금 증가하였다. 이와 같이 Cheddar 1과 2의 적정산도변화는 pH변화와 일치하는 경향을 보여 주었다. Cheddar 1과 2의 경우 적정산도의 변화가 큰 것은 단백질분해효소에 의해 생성된 아미노산의 완충효과 때문이라 생각된다. Italian형 근죽은 4 일까지 대조구와 비슷하게 증가했고 pH조정을 한 5 일과 6 일후에도 조금씩 증가하긴 했지만 그 증가폭은 대조구에 비해 적었다. 대조구와 Italian의 산도변화도 pH변화와 대체적으로 일치하는 경향을 보여 주었다.

**수용성 질소**

발효기간중 단백질분해에 의한 수용성 질소의 변화는 그림 5에 나타내었다. 발효기간중에 수용성 질소는 대체적으로 증가하는 경향을 보여주며 대조구와 Italian-type의 경우 비슷하게 증가하여 7 일후 총 질소의 약 40% 정도가 수용성 질소로 나타났다. 또한 단백질분해효소를 첨가한 Cheddar 1과 2는 발효가 끝난 7 일에 총 질소의 70% 정도가 수용성 질소로 되어 첨가한 단백질분해효소는 우유단백질인 casein을 활발히 분해함을 알 수 있었다. 한편 지질분해 효소를 더 첨가한 Cheddar 2의 수용성질소 함량이 Cheddar 1보다 약간 상회하는 것은 지질분해효소의 첨가가 단백질 분해에 약

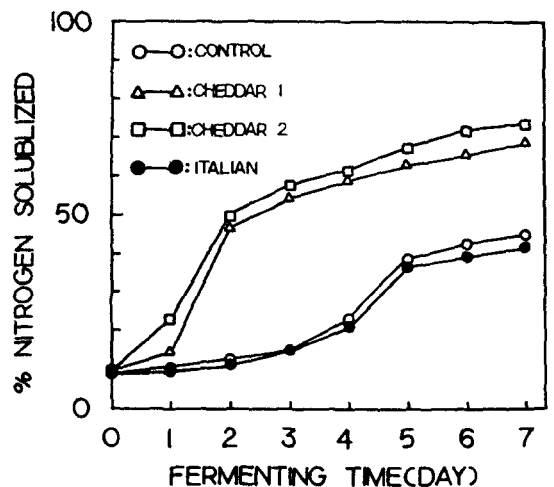


Fig. 5. Change of soluble nitrogen in cheese slurries during fermentation

간의 상승효과가 있음을 보여준다.

**생균수 측정**

생균수의 변화는 그림 6에 나타나 있다. 대조구의 생균수는 발효시작후 5일까지 계속 증가해 1g당  $10^{10}$  을 나타낸 다음 7일까지 계속 비슷한 수치를 보여 주는데 이것은 Ras치즈 곤죽을 실험한 Attia<sup>(13)</sup> 보고와 비슷한 경향이였다.

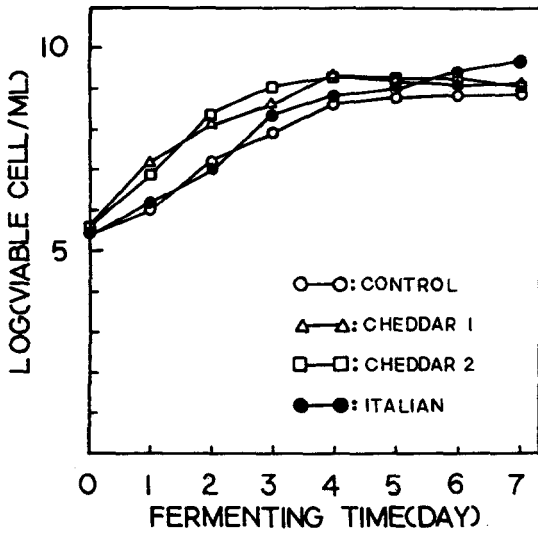


Fig. 6. Change of viable cell count in cheese slurries during fermentation

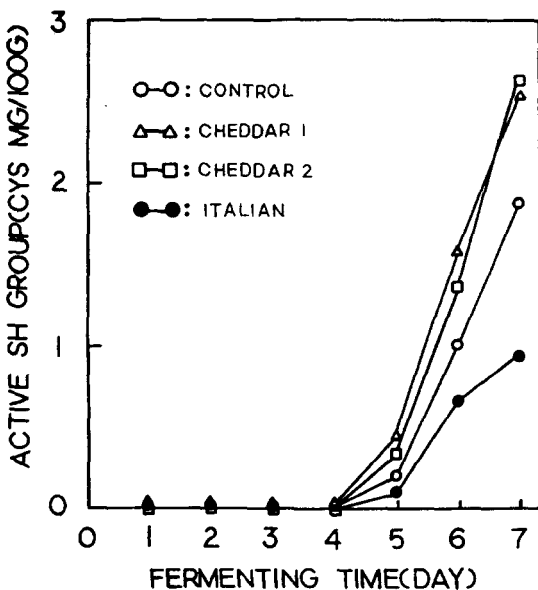


Fig. 7. Change of active SH groups in cheese slurries during fermentation

Cheddar 1과 2는 4일까지 대조구보다 더 증가하는 경향을 보여 1g당  $2 \times 10^{10}$ 의 생균수를 나타내었으며 5일 이후에는 조금씩 감소했다. Cheddar 1과 2의 생균수가 발효초기에 대조구보다 더 많은 것은 단백질과 지질분해에 의해 생성된 아미노산과 지방산을 유산균이 이용하여 이들의 증식속도가 더 빨라졌기 때문이라 생각된다. Italian-type의 생균수는 5일까지 대조구와 비슷하게 증가하며 이후 계속해서 증가하는 경향을 보이고 있는데 이것은 pH및 저정산도 변화와 같은 경향을 보여줌을 알 수 있었다.

**활성 SH기**

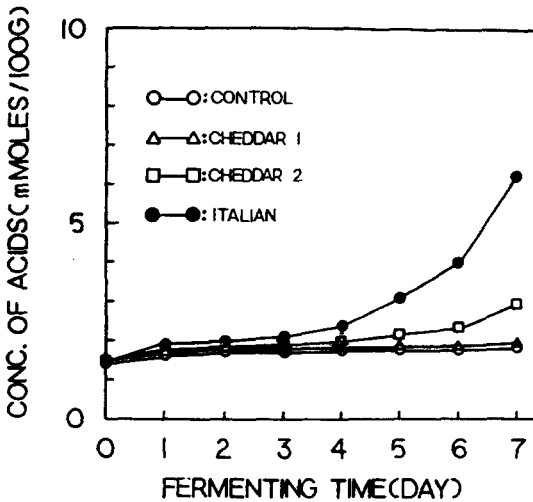
치즈곤죽 발효중 활성 SH기의 변화는 그림 7과 같았다. 환원형 glutathione을 첨가한 대조구와 환원형 glutathione 및 단백질과 지질분해효소를 첨가한 Cheddar 1과 2는 4일까지는 SH기들이 형성되지 않았으나 5일부터는 급격히 증가해 7일에는 대조구에서 1.9mg(cys/100g), Cheddar 1과 2는 2.6mg(Gys/100g)의 활성 SH기가 형성되었다. 이 수치는 Italian-type곤죽의 2.6배에 해당하는 양이지만 Singh과 Kristofferson의 수치와 비교하면 약 절반에 해당된다. 이것은 Na-caseinate를 이용한 치즈곤죽에 환원형 glutathione을 첨가하면 활성 SH기의 생성을 촉진시키기는 하지만 멸균유로 만든 치즈곤죽에 비하면 떨어지는 것을 뜻하는데 이 차이는 우유 중에 함유된 유청단백질이 Na-caseinate에는 결여되어 있기 때문으로 생각된다. 단백질분해효소를 첨가한 Cheddar 1과 2가 대조구보다 더 많은 SH기를 생성하는 것은 단백질분해효소가 단백질분해를 활발히 하여 SH기의 형성을 용이하게 해주기 때문이라 생각된다.

**총 휘발성산**

발효기간 중의 총 휘발성산의 변화는 그림 8에 나타난 바와 같았다. 지질분해효소를 첨가하지 않은 대조구와 Cheddar 1의 경우 휘발성산의 증가가 아주 미약하지만, 지질분해효소를 10ppm 첨가한 Cheddar 2는 4일 이후 휘발성산의 생성이 조금씩 증가하며 Cheddar 2보다 지질분해효소를 10배로 첨가한 Italian-type에서는 휘발성산의 생성이 4일 이후에 아주 빠르게 증가하였다. 이 사실은 유산균과 Na-caseinate에 존재하는 지질분해 효소의 활성이 극히 작으며 Cheddar 2와 Italian-type 치즈곤죽에 첨가한 지질분해효소는 유지방을 잘 분해함을 말해 준다.

**Table 2. Composition of free fatty acids in commercial Cheddar cheese and various Cheddar type cheese slurries**

Fatty acid	Control	Commercial	Cheddar	Cheddar 2
mg/kg				
8:0	6.9	13.8	8.1	25.6
10:0	14.2	33.6	17.8	61.6
12:0	34.3	50.5	32.9	83.5
14:0	93.7	202.1	104.3	247.3
16:0	372.5	673.2	406.2	962.1
18:0	137.0	618.7	170.9	363.4
18:1	359.7	777.4	445.4	1013.2
18:2	159.8	288.2	160.0	327.1



**Fig. 8. Change of total volatile fatty acids in cheese slurries during fermentation**

**유리 지방산**

발효가 끝난 치즈근죽과 시판 Cheddar 및 Italian 치즈의 유리 지방산 Chromatogram은 그림 9와 10에 나타내었고 이것으로부터 계산된 지방산의 조성은 Table 2와 3에 나타난 바와 같았다. 대조구와 Cheddar 1은 Cheddar 치즈에 비해 각종 유리 지방산이 적지만 Cheddar 2는 stearic acid를 제외한 다른 유리 지방산은 더 많은 것으로 나타났다. 한편 Italian-type 치즈근죽은 시판 Italian 치즈보다 유리 지방산이 적게 나타났지만 발효조건과 치즈근죽 조성을 조절함으로써 각종 지방산의 생성이 뛰어난 Italian-type 치즈근죽을 제조할 수 있을 것으로 생각된다.

**점도**

발효중 각종 치즈근죽의 점도는 그림 11에서와 같이 변화하였다. 단백질분해효소의 첨가 유무에 따라 점도

**Table 3. Composition of free fatty acids in commercial Italian-type cheese and Italian-type cheese slurry**

Fatty acid	Commercial Italian	Italian
mg/kg		
8:0	146.2	51.0
10:0	274.5	40.3
12:0	274.0	78.5
14:0	895.0	217.6
16:0	2238.4	892.4
18:0	568.3	402.8
18:1	3946.2	928.1
18:2	724.0	400.3

변화는 서로 다른 두가지 양상으로 나타났다. 단백질분해효소가 첨가되지 않은 대조구와 Italian-type 은 1일 후에 3,400poise를 나타내며 이후 감소하여 대조구는 3일후 800poise를 나타내고 4일에 조금 증가하였다 다시 감소하였으며, Italian-type은 4일까지 감소하다가 5일에 증가하였다 감소하여 7일에는 대조구와 같은 112poise를 나타내었다.

한편 단백질분해효소가 첨가된 Cheddar 1과 2는 발효 하루만 지나면 급격히 감소하여 20poise의 점도를 보이며 2일후에는 4poise까지 감소하였다가 3일 후에 다시 증가하였다. 이후 조금씩 감소하여 7일에는 2poise를 나타냈다. 단백질분해효소를 첨가한 Cheddar 1과 2가 첨가하지 않은 대조구와 Italian-type 보다 매우 낮은 점도를 나타내는 것은 첨가한 단백질분해효소의 casein에 대한 분해작용이 발효초기부터 활발히 일어나기 때문으로 생각된다. 점도는 발효기간중 일시적으로 증가함을 보여 주었는데 그 시기는 각 치즈근죽의 pH가 5.0이하로 떨어지는 최초시기와 대체적

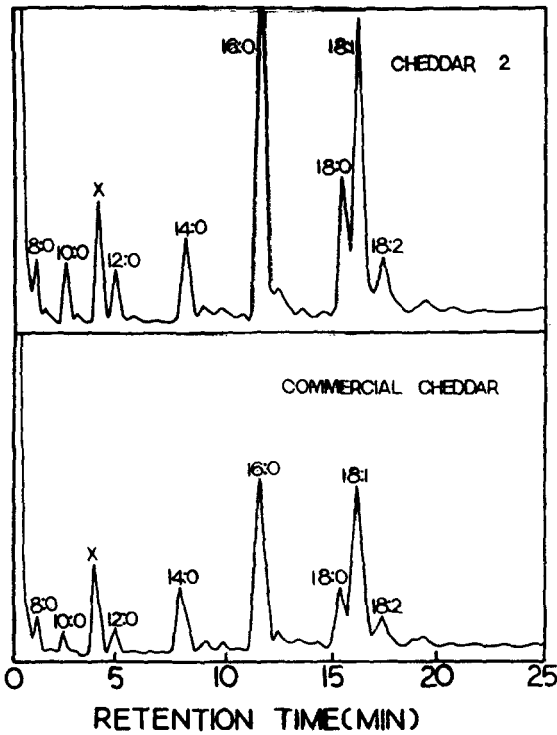


Fig. 9. Gas chromatograms of free fatty acids from Cheddar-type 2 cheese slurry and commercial Cheddar cheese

(X=glutamic acid dimethyl ester)

으로 일치하였으며 이때 casein이 부분응고함으로써 나타난 결과로 추정된다.

casein중류별 분해과정

발효중에 일어나는 단백질 분해의 전기영동 패턴은 그림 12, 13, 14, 15와 같았다. 대조구의 경우  $\alpha$ s-casein이 먼저 분해되기 시작해 3일후면 거의 대부분이 분해되었고  $\beta$ -casein은 4일 후에 대부분이 분해되었다. 이것은  $\beta$ -casein의 분해가 풍미와 밀접한 관계가 있다고하는 Harper<sup>(6)</sup>의 주장을 뒷받침해주고 있으며, 사용된 유산균의 단백질분해효소는  $\beta$ -casein보다  $\alpha$ s-casein에 더 잘 작용함을 말해준다. Italian-type 치즈 곤죽의 단백질분해 패턴은 대조구와 비슷한 경향을 나타내지만  $\alpha$ s-casein의 분해에 있어서 대조구보다 하루 늦어지고 있음을 보여주었다.

단백질분해효소를 첨가한 Cheddar 1과 2는 2일후면  $\alpha$ s와  $\beta$ -casein 모두 대부분이 분해되었다. 분해속도에 있어서  $\alpha$ s-casein은 비슷하지만  $\beta$ -casein은 Cheddar 2가 하루정도 더 빨랐다. 위 사실을 볼 때 첨가한 단백질분해효소는  $\alpha$ s와  $\beta$ -casein모두 잘 분해함을

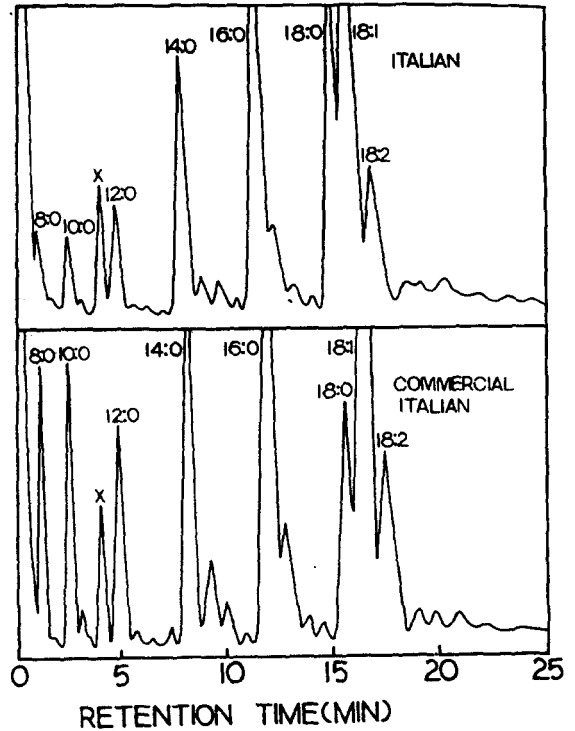


Fig. 10. Gas chromatograms of free fatty acids from Italian-type cheese slurry and commercial Italian-type cheese

(X=glutamic acid dimethyl ester)

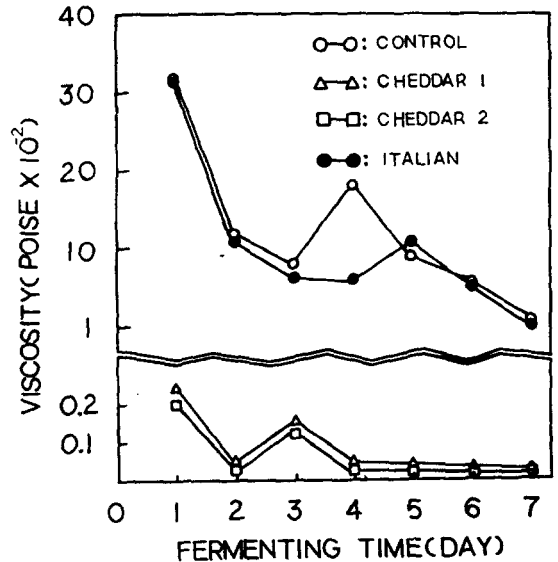


Fig. 11. Change of viscosity in cheese slurries during fermentation

알 수 있었으며, 이것은 Sood와 Kosikowski<sup>(11)</sup> 그리고 Law<sup>(12)</sup>의 보고와 대체로 일치하는 것이었다. 또한 S-



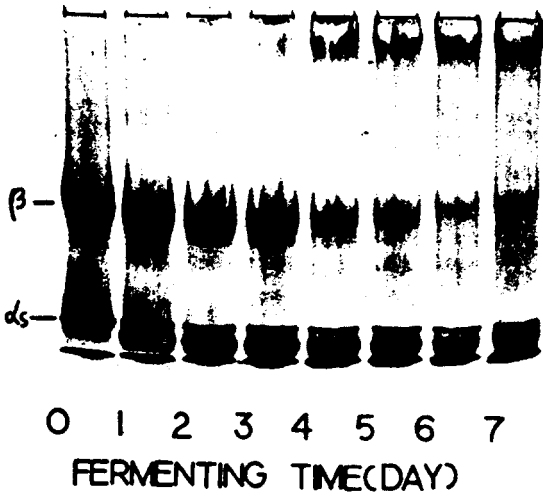


Fig. 12. Electrophoretograms of caseins in Control slurry during fermentation

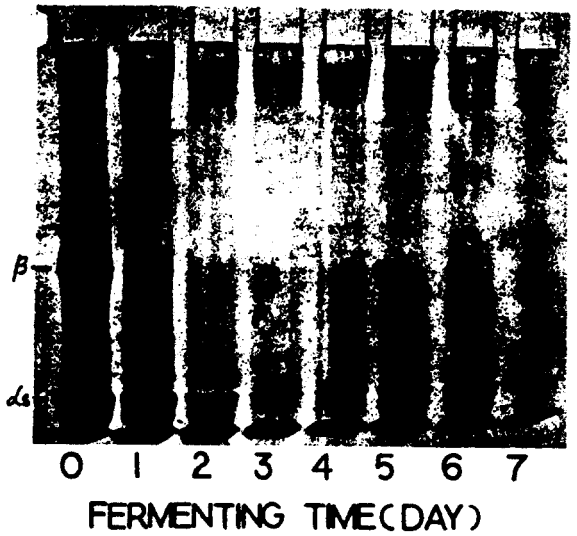


Fig. 14. Electrophoretograms of caseins in Cheddar 2 slurry during fermentation

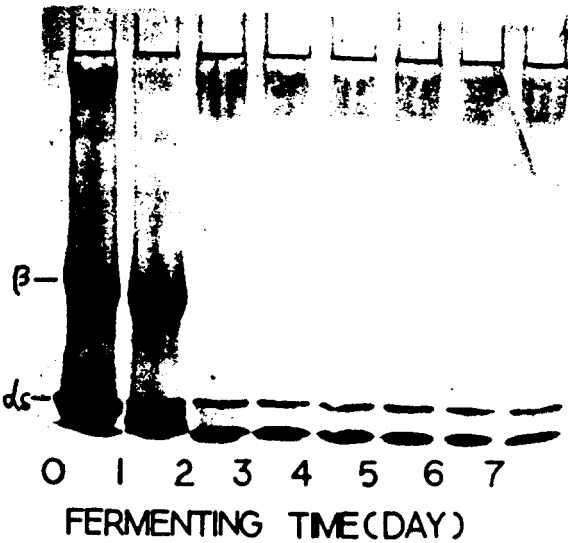


Fig. 13. Electrophoretograms of caseins in Cheddar 1 slurry during fermentation

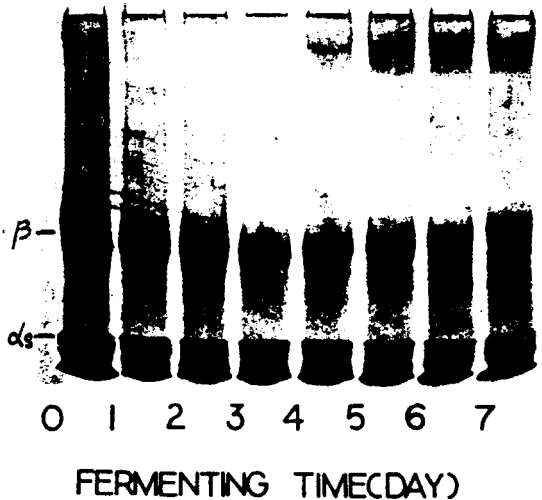


Fig. 15. Electrophoretograms of caseins in Italian-type slurry during fermentation

ood와 Kosikowski가 지적한 바와 같이 Cheddar 1과 2에서 쓴맛 펩타이드가 생성되었다가 분해되어 사라지는 것을 확인할 수 있었다.

요 약

치즈공숙의 제조공정과 기간을 단축시키기 위해서 생 치즈 커드를 제조하지 않고 Na-caseinate, cream, 여러가지 미량성분, 유산종균, 효소를 혼합하여 치즈공숙을 제조하고 30℃에서 매일 30초간 교반하면서 7일동안 발효시킨 다음 치즈공숙의 물리·화학적 특성을 조사하기 위해 수소이온 농도, 적정산도, 수용성 질소,

생균수, 활성 SH기, 총 휘발성산, 유리 지방산, 전기영동에 의한 단백질분해를 분석하였다. 유산균에 의한 산생성은 단백질분해효소를 첨가하지 않은 치즈공숙보다 첨가한 치즈공숙에서 더 활발히 일어나 3일 후에는 pH를 4.90이하로 떨어뜨려 5 N NaOH로 pH를 5.40으로 조정해 주었으며 이후에 pH는 약간 증가하였고, 적정산도의 변화는 pH변화와 비슷한 경향을 보여주었다. 단백질분해효소를 첨가하지 않은 치즈공숙은 발효가 끝났을 때 총 질소의 약 40%가 수용성 질소로 되었으나 효소를 첨가한 치즈공숙은 70%정도의 단백질이 수용성 질소로 분해되었다. 사용한 유산종균, 즉 *Streptococcus lactis*와 *Streptococcus cremoris*에

의한 단백질 분해는 Cheddar 치즈에서와 같이  $\alpha$ -casein이  $\beta$ -casein보다 먼저 분해되며, 첨가한 단백질분해효소는  $\alpha$ -casein과  $\beta$ -casein을 모두 활발히 분해시켜 3일이 지나면 모든 단백질이 펩타이드와 아미노산으로 되었다. 단백질 분해효소를 첨가한 치즈곤죽에서는 쓴맛 펩타이드가 형성되었다가 사라짐을 관찰할 수 있었다. 한편 지질분해효소를 첨가할 경우 총 휘발성산이 4일 이후에 급격히 증가함을 통해 사용효소는 유지방을 잘 분해함을 알 수 있었으며 GLC에 의한 유리 지방산의 분석 결과는, Cheddar 치즈곤죽은 시판 Cheddar 치즈와 비슷하고 Italian형 치즈곤죽은 시판 Italian 치즈보다 약간 떨어졌다. Cheddar 치즈의 중요한 풍미성분인 황성 SH기는 glutathione을 첨가한 치즈곤죽에서 발효 4일부터 증가하였으며 단백질분해효소를 함께 첨가할 경우 그 증가현상이 현저하였다. 단백질분해효소의 첨가유무에 따라 점도 변화는 다른 두 가지 양상으로 나타나 효소를 첨가할 경우 단백질이 분해됨에 따라 점도가 급격히 감소하였다.

### References

- Kristofferson, T., Mikolajcik, E. M. and Gould, I. A. : *J. Dairy Sci.* **50**, 292 (1967)
- Singh, V. K. and kristofferson, T. : *J. Dairy Sci.* **53**, 533 (1970)
- Singh, V. K. and Kristofferson, T. : *J. Dairy Sci.* **54**, 1589 (1971)
- Harper, W. J. and Kristofferson, T. : *J. Agr. Food Chem.* **18**, 563 (1970)
- Lee, H. J. and Olson, N. F. : *Korean J. Dairy Sci.* **4**, 85 (1982)
- Kristofferson, T. : *J. Agr. Food Chem.* **21**, 573 (1973)
- McGugan, W. A. : *J. Agr. Food Chem.* **23**, 1047 (1975)
- Harper, W. J., Caroma, A. and Kristofferson, T. : *J. Food Sci.* **36**, 503 (1971)
- Singh, V. K. and Kristofferson, T. : *J. Dairy Sci.* **54**, 349 (1971)
- Singh, V. K. and Kristofferson, T. : *J. Dairy Sci.* **55**, 744 (1972)
- Singh, V. K. and Kristofferson, T. : *Indian J. Dairy Sci.* **27** (1974)
- Sood, V. K. and Kosikowski, F. V. : *J. Food Sci.* **44**, 1690 (1979)
- Sutherland, B. J. ; *Aust. J. Dairy Tech.*, **30**, 138 (1975)
- Dulley, J. R. : *Aust. J. Dairy Tech.*, **31**, 143 (1976)
- Attia, A. A. B., Neshewy, A. E., Rabie, A. H. M. and Farahat, S. M. : *J. Dairy Res.*, **49**, 337 (1982)
- AOAC. Method of Analysis. 13th E. (1980)
- Harrigan, W. F. : *Laboratory methods in Food and Dairy Microbiology.*, Academic Press (1976)
- Kristofferson, T., Gould, L. A. and Purvis, G. A. : *J. Dairy Sci.*, **47**, 599 (1960)
- Koka, M., Mikolajcik, E. M. and Gould, L. A. : *J. Dairy Sci.*, **51**, 217 (1968)
- Ji, E. S., Cha, G. J. and Yu, J. H. : *Korean J. Dairy Sci.*, **5**, 104 (1983)
- Thompson, M. P., Kiddy, C. A., Johnston, J. O. and Meinberg, R. M. : *J. Dairy Sci.*, **47**, 378 (1964)
- Deeth, H. C., Fitz-gerald, C. H. and Snow, A. J. : *N. Z. J. Dairy Sci. & Tech.*, **18**, 13 (1983)
- Metcalf, L. D., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. : *Anal. Chem.*, **38**, 514 (1966)
- Law, B. A. : *Neth. Milk Dairy J.*, **35**, 313 (1981)

(1985년 7월 19일 접수)